Der Nachweis natürlicher Cumarine in Drogen

Inaugural-Dissertation
der medizinischen Fakultät der Universität Bern zur Erlangung der Würde eines Doctor pharmaciae

vorgelegt von

Edgar Manella, Apotheker

von Celerina und Ilanz (Graubünden)

Von der medizinischen Fakultät
auf Antrag des Herrn Professor Dr. P. Casparis angenommen
Bern, 17. Februar 1943 Der Dekan: Prof. Dr. A. von Muralt

Separat-Abdruck erschienen in: »Hundert Jahre Schweizerischer Apotheker-Verein« / »Pharmaceutica Acta Helvetiae« Nrn. 8/9, 18, 714—719 (1943).

1944

Der Nachweis natürlicher Cumarine in Drogen

Inaugural-Dissertation
der medizinischen Fakultät der Universität Bern zur Erlangung der Würde eines Doctor pharmaciae

vorgelegt von

Edgar Manella, Apotheker

von Celerina und Ilanz (Graubünden)

Von der medizinischen Fakultät
auf Antrag des Herrn Professor Dr. P. Casparis angenommen
Bern, 17. Februar 1943 Der Dekan: Prof. Dr. A. von Muralt

Separat-Abdruck erschienen in: »Hundert Jahre Schweizerischer Apotheker-Verein« / »Pharmaceutica Acta Helvetiae« Nrn. 8/9, 18, 714—719 (1943).

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

DEM ANDENKEN MEINER LIEBEN ELTERN

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, meinem verehrten Lehrer

Herrn Professor Dr. P. Casparis,

auf dessen Anregung hin ich vorliegende Arbeit ausführte, für die wertvolle Hilfe, die er mir zuteil werden liess, meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Ebenso bin ich

Frau Dr. H. Kämpf-Mitrea

für ihr grosses Interesse, mit dem sie meine Untersuchungen verfolgte und mir stets mit ihrem Rat zur Seite stand, zu aufrichtigem Dank verpflichtet.

Die vorliegende Arbeit wurde am
Pharmazeutischen Institut der Universität Bern
ausgeführt.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546502_0078

A. Allgemeiner Teil.

1. Historisches.

„*Coumarouna*" ist die landesübliche Bezeichnung für *Dipteryx odorata*, eines in Cayenne (Südamerika) heimischen Baumes aus der Familie der Leguminosen (Papilionaten). Aus dessen Samen, den Tonkabohnen, isolierte *Vogel* 1820 (1) eine weisse, gut kristallisierende und angenehm riechende Substanz, die er für Benzoesäure hielt. Diese fragliche Substanz, mit der sich im Laufe der Jahrzehnte zahlreiche Forscher beschäftigten, war das *Cumarin*. *Bleibtreu* (2) 1846, wie auch *Dumas* stellten dafür die Formel C_{18} H_6 O_4 auf. Weitere in der Literatur zu findende Formeln für das *Cumarin* sind C_{20} H_6 O_4, C_{18} H_{14} O_4, während die richtige Formel C_9 H_6 O_2 ist. Die gleiche Unstimmigkeit gilt für den Schmelzpunkt, indem man in der älteren Literatur für das *Cumarin* Schmelzpunkte von 40°, 50° und 120° angegeben findet. Die erste Synthese des *Cumarins* erfolgte fast 50 Jahre nach seiner Entdeckung durch *Perkin* 1868 (3) aus Natriumsalicylaldehyd und Essigsäureanhydrid. *Perkin* gelang es nicht, die Cumarinkonstitution aufzuklären. Seine Deutung der Cumarinstruktur war unrichtig. Erst *Strecker* 1867 und *Fittig* 1870 (4) fanden die damals noch lange Zeit angezweifelte, heute jedoch als richtig befundene Formulierung.

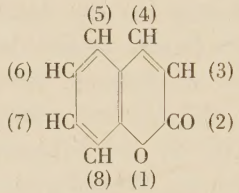
Nicht weniger Schwierigkeiten bereitete den Chemikern das *Imperatorin*. *Osann* 1831 (5) isolierte aus den Rhizomen von *Imperatoria Ostruthium* einen kristallisierten Inhaltsstoff, den er als *Imperatorin* bezeichnete. Dieses Osannsche Imperatorin hat sich im Laufe von 100 Jahren als ein Gemisch von 6 verschiedenen Cumarinen erwiesen. Die Bezeichnung Imperatorin wurde fallen gelassen, als 1874 *Gorup-Besanez* (6) das *Ostruthin*, 1875 *Heut* (7) das *Oxypeucedanin*, 1909 *Herzog* und *Krohn* (8) das *Osthol* und das *Ostruthol* in *Imperatoria Ostruthium* entdeckten. *Späth* (9) verwendete dann 1930 den freigewordenen Namen *Imperatorin* für ein von ihm aus Imperatoria-Rhizom isoliertes neues Cumarin und nannte ein weiteres von ihm darin neu entdecktes *Isoimperatorin*. Seit der Entdeckung des Cumarins sind noch verschiedene Inhaltsstoffe aus Pflanzen isoliert worden, die teils als „Kohlenwasserstoffe", teils als „Naphthalinderivate" bezeichnet wurden, die jedoch nach neueren Untersuchungen zu den Cumarinen gezählt werden müssen.

Eine gewisse Vorsicht ist somit bei der Beurteilung der Angaben der älteren Cumarinliteratur gerechtfertigt. In den letzten 10 Jahren haben sich *Späth* (10) und seine Mitarbeiter eingehend mit den Cumarinen beschäftigt und dabei sehr viel zur Kenntnis dieser Pflanzeninhaltsstoffe beigetragen. Bis heute sind über 50 Cumarine bekannt. Diese Zahl wird sich sicherlich noch erhöhen. Sehr viel Pflanzenmaterial, in welchem Cumarine vermutet werden dürfen, harrt noch der Untersuchung.

Eine besondere Gruppe der Cumarine bilden die Furocumarine, die in dieser Arbeit ebenfalls einbezogen werden.

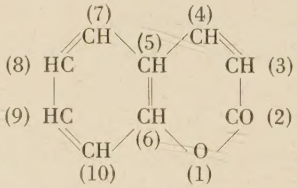
2. Chemie und Vorkommen.

Das Cumarin ist der Grundkörper einer Gruppe stickstoffreier Lactone, die im Pflanzenreich in freier und gebundener Form vorkommen.



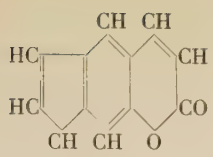
Cumarin

Die angeführte Numerierung der Kohlenstoffatome des Cumarins ist die gebräuchlichste. Es existieren noch andere Vorschläge, z. B. derjenige von *Borsche* (11), der eine genauere Definierung des Cumarinskelettes erlaubt:

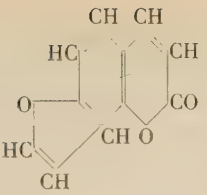


Das *Cumarin* ist Benzo-α-pyron, gebildet durch die Verkettung eines Pyronringes mit einem Benzolkern, wobei beide Ringe 2 Kohlenstoffatome, 5 und 6 nach *Borsche*, gemeinsam haben.

Bei den Furocumarinen ist der Benzolring zudem noch mit einem Furanring kondensiert, wobei gegenseitig auch je 2 Kohlenstoffatome beansprucht werden. Die Bindung kann an zwei verschiedenen Stellen erfolgen. Infolgedessen sind 2 Gruppen von Furocumarinen zu unterscheiden, nämlich Furo-2',3':7,6-cumarin, wie es im *Psoralen* vorliegt, und das Furo-2',3':7,8-cumarin wie man es als *Angelicin (Isopsoralen)* kennt.



Psoralen



Angelicin (Isopsoralen)

Vom Psoralen leiten sich die Furocumarine *Bergapten, Bergaptol, Isoimperatorin, Oxypeucedanin, Ostruthol, Imperatorin, Isopimpinellin* und *Xànthotoxin* ab, vom Angelicin das *Isobergapten* und das *Pimpinellin.*

Um einen Gesamtüberblick über die bekannten, natürlich vorkommenden, bis heute isolierten und in der Literatur angeführten Cumarine zu erhalten, wurde eine Zusammenstellung in Tabellenform ausgearbeitet (siehe Anhang Tabelle A, Seite 66). Die Tabelle A umfasst 55 natürliche Cumarine. Sie stützt sich auf die Originalliteratur und eine Publikation von *Späth* (10).

Neben der Angabe des Schmelzpunktes, der Bruttoformel und der Ausgangsdroge wurden jeweils die Autoren, die sich mit der Isolierung, der Konstitutionsaufklärung oder der Synthese befassten, angeführt. Die Erwähnung aller Arbeiten hätte die Übersichtlichkeit der Tabelle gestört. Deshalb wurden nur die Entdecker der verschiedenen Cumarine, sowie die Autoren der neusten Arbeiten aufgenommen. Die Einteilung der Tabelle A beruht auf der von *Späth* angeführten Gruppeneinteilung, in die sich alle bis heute isolierten Cumarine eingliedern lassen:

1. Cumarin und seine einfachen Abkömmlinge.
2. Oxy- und Methoxy-cumarine und deren Glycoside.
3. Im Benzol- oder Pyronring alkylenierte oder alkylierte Oxy- oder Methoxy-cumarine.
4. Furocumarine.
5. Cumarine, die einen 2,2-Dimethyl—1,2-chromen-ring aufweisen.

In den einzelnen Gruppen wurden die Cumarine nach Schmelzpunkten geordnet.

Auf Seite 22, 23 findet sich eine weitere Tabelle mit den Formeln einiger charakteristischer Vertreter der oben angeführten 5 Gruppen.

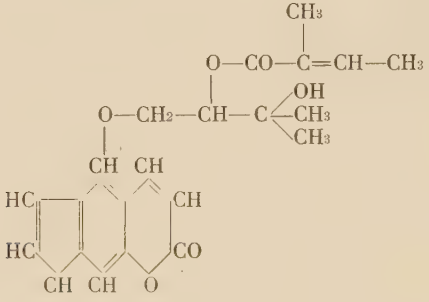
Ohne auf die Formeln im einzelnen näher einzutreten, sei doch darauf hingewiesen, wie oft der sogenannte „Prenylrest" (Dimethylallylrest) auftritt. Dieser Rest kann direkt am Kern sitzen, wie beim *Osthol*, oder ätherartig gebunden sein, wie beim *Imperatorin*. In letzterer Form ist er leicht abspaltbar. Im *Ostruthin* tritt dieser „Prenylrest" zweimal und im *Ammoresinol* dreimal auf. An dieser Aneinanderreihung von solchen „Prenylresten" ist der Aufbau der Seitenketten aus Isoprenmolekülen ersichtlich.

Auf einige Ausnahmen soll besonders hingewiesen werden:

Die *Cumaringlycoside* gehören nach dem heutigen Stand der Arbeiten bis auf zwei Ausnahmen zur zweiten Gruppe der oben aufgeführten 5 Gruppen, d. h. zu den Oxy- und Methoxy-cumarinen. Die beiden Ausnahmen sind:

1. Das *Melilotosid* (Glucosido-o-cumarsäure), das bei der Hydrolyse in d-Glucose, Cumarsäure und sehr wenig Cumarin spaltet. Es gehört der ersten Gruppe an.
2. Das *Nodakenin* (Glucosido-Nodakenetin), ein Furocumarin, das somit das erste Glucosid eines natürlichen Furocumarins darstellt.

Eine weitere Ausnahme bildet das *Ostruthol*, da es einen *Ester* eines Cumarins darstellt. Es gehört zu den Furocumarinen und stellt den Ester des Oxypeucedaninhydrates mit Angelicasäure dar.



Ostruthol

Das *Ostruthol* bildet zusammen mit dem *Toddalo-lacton* auch insofern eine Ausnahme, als es im Gegensatz zu den übrigen Cumarinen *optisch aktiv* ist.

Eine weitere Ausnahmestellung nimmt das *Ammoresinol* (3-Farnesyl-4,7-dioxy-cumarin) ein, indem es das einzige Cumarin von den bis heute bekannten darstellt, das in Stellung 3 und 4, d. h. an der Aethylengruppe des Pyronringes, substituiert ist.

Eine weitere Tabelle B (siehe Anhang Seite 76) enthält den Gehalt verschiedener Drogen an Cumarinen in Prozenten, bezogen auf das Gewicht getrockneter Substanz. Diese Tabelle soll lediglich als Ergänzung zur Tabelle A gedacht sein. Sie zeigt, dass in sehr vielen Drogen nicht nur ein einziges Cumarin vorkommt, sondern 4 bis 5 Vertreter dieser Pflanzenstoffe darin enthalten sein können.

Aus den Tabellen A und B geht hervor, dass bestimmte Pflanzenfamilien besonders reich an Cumarinen sind. Es sind dies die Familien der Umbelliferen, Rutaceen, Gramineen, Leguminosen, Orchideen und Solanaceen. Einige dieser Pflanzen haben als Drogen in der PH. H. V. Aufnahme gefunden. Es sind dies die folgenden:

Droge	Cumarine
Radix Angelicae	Angelicin, Osthol, Osthenol, Xanthotoxol
Radix Pimpinellae	Iso-bergapten, Iso-pimpinellin
Radix Levistici	Umbelliferon
Ammoniacum	Ammoresinol
Asa foetida	Umbelliferon
Galbanum	Umbelliferon
Radix Scammoniae	Scopoletin
Radix Belladonnae	Scopoletin
Folium Belladonnae	Scopoletin
Resina Jalapae	Scopoletin
Flos Chamomillae	Herniarin, Umbelliferon
Flos Lavandulae	Cumarin, Herniarin
Cortex Mezerei	Umbelliferon, Daphnetin
Herba Rutae	Bergapten
Tuber Salep	Cumarin
Flavedo Citri rec.	Limettin (Citropten)
Oleum Bergamottae	Bergapten, Bergaptol

Diese Drogen werden allerdings im allgemeinen nicht wegen ihres Gehaltes an Cumarinen, sondern zufolge des Vorhandenseins anderer Inhaltsstoffe therapeutisch verwendet.

Es ist nicht bekannt, wie die Pflanzen die Cumarine aufbauen. Wie bei andern Pflanzeninhaltsstoffen, existieren auch hier Hypothesen (12). Die Beweise für deren Richtigkeit fehlen. Ebenfalls unbekannt ist die Bedeutung, welche die Cumarine für die Pflanzen selbst haben. *Asai* (13) vertritt die Schutztheorie, indem er das in der Pflanze vorhandene Cumarin als Filter gegen die schädliche Wirkung des kurzwelligen Lichtes auffasst.

3. Die physiologische Wirkung der Cumarine.

Über die physiologische Wirkung der Cumarine orientieren die Arbeiten verschiedener Autoren. *Ellinger* (14) hat eingehende pharmakologische Untersuchungen mit dem *Cumarin* selbst gemacht, und dabei Eigenschaften dieser Verbindung festgestellt, die den Narcoticis der Fettreihe zukommen. So beobachtete der Autor bei Fröschen und Kaninchen eine tiefe, aber harmlose Narkose. *Späth* (15) hat die Wirkung der natürlichen Cumarine, wie auch diejenige einer Reihe von synthetisch gewonnenen Verbindungen dieser Körperklasse, an einem Süsswasserfischchen, dem *Guppyi (Lebistes reticulatus)*, verfolgt. Der Autor erhielt sehr verschiedene Wirkungswerte für die verschiedenen Cumarine bei konstant gleichstarken Konzentrationen.

Späth beobachtete:

1. Eine Beeinflussung der Wirkung durch die Isomerie. Das 7-Oxy-cumarin wirkt stärker als das 6-Oxy-cumarin.
2. Eine gesteigerte Giftwirkung durch den Eintritt von Aethylgruppen an den Sauerstoff (Aethoxy-cumarine).
3. Eine sehr starke Giftwirkung kernalkylierter und kernalkylenierter Cumarine.

Sehr interessant ist eine Arbeit von *Kuske* (16) über die „perkutane Photosensibilisierung durch pflanzliche Wirkstoffe". Der Autor erkannte die photosensibilisierenden Eigenschaften der Furocumarine und stellte zugleich fest, das nicht alle Furocumarine im gleichen Masse die Fähigkeit besitzen, eine Photosensibilisierungsdermatitis auszulösen. Maximal bzw. sehr kräftig photosensibilisierend wirken *Bergapten* und *Xanthotoxol*. Kräftig wirken *Imperatorin* und *Oxypeucedanin*. Schwach wirksam sind *Bergaptol* und *Isobergapten*. Nicht sensibilisiert haben *Isopimpinellin* und *Ostruthol*. Die Frage der Beziehungen zwischen Konstitution und photosensibilisierender Wirkung steht auch hier noch offen.

Die Dosis von 4,0 g *Cumarin* erzeugt beim Menschen Erbrechen, Kopfschmerzen und Schwächezustände. Mit dem Gedanken an eine eventuelle human-medizinische Verwendungsmöglichkeit, versuchte *Fromherz* (17) die narkotische Wirksamkeit des *Cumarins* durch Änderungen am Molekül, Reduktion zum *Dihydrocumarin*, zu beeinflussen.

In diesem Sinne hat auch *v. Werder* (18) Versuche mit der synthetisch dargestellten *Cumarin-3-carbonsäure* angestellt. *v. Werder* stellte fest, dass mehrfach alkylierte Amide der Cumarincarbonsäuren, z. B. das *Cumarin-3-carbonsäurediäethylamid*, besonders kräftig sedativ und auch hypnotisch wirken.

Ob die natürlichen Cumarine oder nur die synthetischen Derivate dieser Körperklasse einen therapeutischen Wert für die Humanmedizin erlangen werden, ist eine Zukunftsfrage. Die obigen Angaben lassen erkennen, dass Versuche in dieser Hinsicht schon gemacht worden sind.

4. Der Nachweis der Cumarine.

Da natürliche Cumarine erst in neuerer Zeit in grösserer Anzahl bekannt geworden sind, liegt es in der Natur der Sache, dass über deren Nachweis in der Literatur wenig Angaben anzutreffen sind. Die meisten beziehen sich auf Spezialreaktionen zur Identifizierung vereinzelter, schon längere Zeit be-

kannter Cumarine, wie des *Cumarins* selbst, des *Umbelliferons*, des *Aesculetins* usw. Es seien erwähnt der Nachweis von

1. Cumarin:

Nach *Nestler:* (19) Das Mikrosublimat bildet undeutlich ausgebildete Prismen, die zu gekrümmten Gebilden vereint sind. Beim Lösen des Sublimates in verdünnter Natronlauge und nachfolgendem Hinzufügen von verdünnter Essigsäure entstehen lange Kristallnadeln und kleine Prismen.

Nach *Wuite:* (19) Dieser Autor beobachtet die Jodadsorption beim Hinzufügen einer Jodjodkalilösung zur wässrigen oder weingeistigen Lösung des Sublimates.

Nach *v. Ziip:* (19) Man verrührt einen kleinen Teil des Sublimates mit einem kleinen Tropfen Wasser, fügt soviel Kongorot hinzu, als an einer Platinnadel hängen bleibt und bringt einige Kriställchen Quecksilberchlorid in die Mitte des Präparates. Es entstehen zahlreiche lange Nadeln.

Nach *Senft:* (19) Beim Hinzufügen von Chlorzinkjod zum Sublimat entstehen sehr lange und zarte, hin- und hergebogene, schmutzig bräunlichviolette Kristallfäden, die zu Büscheln vereinigt sind.

Nach *Behrens:* (20) Das durch wiederholtes Abdampfen mit weingeistiger Natronlauge entstandene Cumarat bildet mit Thallonitrat schwefelgelbe Prismen, deren mit Essigsäure angesäuerte Lösung gekrümmte Kreuze von rhombischen Kriställchen gibt.

Alle oben angeführten Autoren benützen die Mikrosublimation nur zur Isolierung des Cumarins aus der Droge. Eine nachfolgende chemische Identifizierung ist unbedingt notwendig, weil die Kristallformen der Sublimate allein zu wenig beweisend sind.

2. Umbelliferon:

Nach *Tunmann:* (21) Der Nachweis stützt sich auf die Beobachtung der blauen Fluoreszenz des gelösten Sublimates.

Nach *Goris:* (22) Man bringt die Schnitte 2 bis 4 Stunden in Salpetersäure, spez. Gew. 1,33, die 0,2 bis 0,3% Eisen enthält und dann in Ammoniak. Sobald man — nach einigen Minuten — eine Rosa- oder Violettfärbung eintreten sieht, legt man die Schnitte in Glyzerin.

3. Aesculetin:

Nach *Tunmann:* (21) In der durch Erwärmen bereiteten Lösung des Aesculetins entsteht nach Zusatz von Goldchlorid ein kleinkristallinischer, tiefblauer Niederschlag.

Nach *Rochleder:* (23) Wenn Aesculetin zunächst mit Bisulfit und dann mit Ammoniak behandelt wird, so beobachtet man eine tiefblaue Farbreaktion.

4. Daphnetin:

Eine wässrige Lösung von Daphnetin wird durch Zusatz von Ferrichlorid grün gefärbt. Nach Zugabe von Soda schlägt die Farbe in Violett um. (Rosenthaler, der Nachweis organischer Verbindungen [1923], 384).

5. Aesculin und Fraxin:

Nach *Klein* und *Linser:* (19) Beide Autoren prüfen auf die Anwesenheit von Aesculin und Fraxin mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskopes.

Wenig bekannt ist bisher über Gruppenreaktionen der Cumarine. Bei der heute, insbesondere durch die Arbeiten von *Späth* und seiner Schule bekannt gewordenen, verhältnismässig weiten Verbreitung der Cumarine wäre es indessen wünschenswert, wenn man an Hand einiger Gruppenreaktionen bei einer Pflanze den Nachweis erbringen könnte, ob sie Cumarine überhaupt enthält oder nicht.

Versuche in dieser Richtung sind kürzlich mit Hilfe der Mikrosublimation und Fluoreszenz von *Seifert* (24) unternommen worden. Der Autor zog aus seinen Untersuchungen die Folgerung, dass durch die Mikrosublimation allein nur eine beschränkte Zahl von Cumarindrogen charakterisiert werden kann, beispielsweise Rhizoma Gelsemii *(Scopoletin)*, Herba Rutae *(Bergapten)* und Galbanum *(Umbelliferon)*. *Seifert* führte im weitern noch eine Methode an, mit der Cumarine auf „nassem" Wege, mit Hilfe der Fluoreszenz-Farbänderung, in saurer, alkalischer und einer Lösung in Chloroform identifiziert werden können.

Zufolge des erwähnten Mangels an guten Nachweisreaktionen für Cumarine wird in vorliegender Arbeit der Versuch gemacht, mit Hilfe von Reaktionen, die möglichst für alle Untergruppen der Cumarine zutreffen, die natürlichen Cumarine in möglichst kleinen Mengen nachzuweisen.

Die Nachweise sollen möglichst so ausgestaltet werden, dass sie zu entscheiden vermögen, ob in einer Pflanze bzw. in einem Pflanzenteil Cumarine enthalten sind oder nicht.

Wenn man allgemeingültige Nachweismethoden für Cumarine finden will, so ist es nötig, zuvor an Hand der in der Literatur zu findenden Angaben, zu prüfen, welche physikalischen Methoden und welche der bisher bekannten chemischen Reaktionen der Cumarine hierfür in Frage kommen könnten. Hierbei ist selbstverständlich, dass für den Nachweis derartiger Verbindungen in den Pflanzen nur solche Methoden in Frage kommen, die die Identifizierung mit verhältnismässig kleinen Mengen und ohne Anwendung zu komplizierter Reaktionen gestatten. Dementsprechend werden in den nachstehenden Betrachtungen nur in diesen Rahmen fallende Reaktionen diskutiert.

A. Der Nachweis auf physikalischem Wege.

1. Sublimation.

Auf Seite 14 ist schon darauf hingewiesen worden, dass nach den Untersuchungen von *Seifert* die Mikrosublimation nur bei einzelnen Cumarinen charakteristische Kristallbildungen ergibt. Es liegt in der Natur dieser Methode, dass sie sich zum Nachweis einer ganzen Gruppe von Verbindungen nicht eignen kann, da selbstverständlich bei den immerhin chemisch recht unterschiedlich gebauten Cumarinen ein einheitliches Ergebnis von vorneherein nicht zu erwarten ist. Jedoch vermag die Sublimation zur Isolierung der Cumarine, wie wir sehen werden, wertvolle Dienste zu leisten.

2. Fluoreszenz.

Seifert hat, wie auf Seite 14 erwähnt, die Fluoreszenz als Gruppennachweis für die Cumarine geprüft und gefunden, dass sie in den meisten Fällen verwendbar ist. Wir haben sie daher ebenfalls mit in unsere Untersuchungen einbezogen.

3. Jodadsorption.

Die α- und γ-Pyrone geben nach *Barger* und *Starling* (25) mit Jod „blaue Adsorptionsverbindungen des Jods". Hierbei treten allerdings auch noch andere Färbungen auf; so wird von diesen Autoren für das *Benzo-* γ*-pyron* eine rote Färbung angegeben. *Barger* und *Starling* sind der Auffassung, dass es sich hier um eine analoge Jodadsorption handelt wie bei der *Stärke*, und wie sie auch bei der *Cholsäure* und dem *Saponarin* bekannt ist Die genannten Autoren haben gezeigt, dass man bei den Pyronen diese Jodadsorptionsverbindungen mit Wasser aus ihren Lösungen ausfällen kann, wobei man zum Teil Mischkristalle mit Pleochroismus erhält. Da die Cumarine durchwegs α-Pyrone sind, lag es nahe, diese Bildung von Mischkristallen auf ihre Verwendbarkeit zu einem allgemeinen Cumarinnachweis zu prüfen.

B. Der chemische Nachweis.

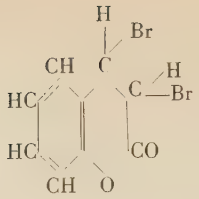
I. Reaktionen des unveränderten Moleküls.

1. Additionsreaktionen.

Die Anlagerung von Brom.

Cumarin bildet mit Brom in Eisessig oder Schwefelkohlenstoff (siehe Seite 33) bei mässiger Wärme ein Cumarindibromid (26).

Diese Reaktion verläuft träge und kann unter dem Einfluss des Sonnenlichtes oder nach *Williams* (27) mit Hilfe der Quecksilberdampflampe wesent-



Cumarindibromid

lich beschleunigt werden. Das Cumarindibromid stellt eine gut kristallisierte Substanz dar. Es ist allerdings nicht sehr stabil. Beim Erhitzen auf ungefähr 100° schmilzt es und gibt bei weiterem Erhitzen Brom ab. Eine Zersetzung in Monobromcumarin und Bromwasserstoff tritt bereits in alkoholischer Lösung ein, wenn diese dem Lichte ausgesetzt wird.

Es schien immerhin interessant, zu prüfen, ob bei natürlichen Cumarinen analoge Brom-Additionsverbindungen entstehen, die gegebenenfalls für den makro- oder mikrochemischen Nachweis in Frage kommen könnten.

2. Bildung von Komplexsalzen.

a) *Die Perjodide.*

Nach Angaben von *Lüer* (28) entsteht Cumarinperjodid beim Erhitzen einer Lösung von *Cumarin* in jodkalihaltigem Wasser mit einer konzentrierten Lösung von Jodjodkali. Nach *Lüer* stellt Cumarinperjodid das Alkalisalz einer komplizierten Organowasserstoffsäure dar:

$$4C_9H_6O_2 \cdot KJ \cdot J_3 \cdot H_2O$$

Analoge Perjodide bilden sich nach demselben Autor auch mit synthetisch dargestellten Cumarinen, so z. B. mit *3-Methylcumarin.*

Auf 4 Moleküle des Cumarins kommen 1 Molekül KJ und 3 Atome Jod. Das Jod ist lose gebunden und mit Natriumthiosulfat quantitativ abspaltbar. Deshalb nennt *Lüer* diese Verbindungen Perjodide. Wird an Stelle von Kaliumjodid Lithium-, Rubidium- oder Caesium-jodid verwendet, so entstehen Alkalijodidperjodide, die sich durch die Kristallform, die Färbung und den Schmelzpunkt voneinander unterscheiden. Da diese Verbindungen als Salze sehr schön auskristallisieren, können sie für den Nachweis in Betracht gezogen werden.

b) *Metallverbindungen.*

Nach *Clayton* (29) entsteht Cumarinmercurichlorid bei der Vereinigung ätherischer oder auch alkoholischer Lösungen der Komponenten in molekularem Verhältnis. Die Verbindung ist unbeständig. Sie spaltet sich leicht wieder rückwärts.

Beim Lösen von Platinchlorid, Goldchlorid und Kaliumkobalticyanid in einer Lösung von *Cumarin* in konzentrierter Salzsäure haben *Morgan* und *Micklethwait* (30)

Cumarinchloroplatinat , $4\ C_9\ H_6\ O_2 \cdot H_2\ Pt\ Cl_6 \cdot 4\ H_2\ O$;

Cumarinchloroaurat , $4\ C_9\ H_6\ O_2 \cdot H\ Au\ Cl_4 \cdot 4\ H_2\ O$;

und Cumarin-Kobalticyanid , $3\ C_9\ H_6\ O_2 \cdot H_3\ CO\ (CN)_6 \cdot 3\ H_2\ O$

in kristallisierter Form erhalten. Diese Komplexverbindungen dissoziieren mit Wasser und zersetzen sich beim Erhitzen zwischen 100 ° bis 120 °. Da diese Verbindungen Oxoniumsalze darstellen, ist allerdings zu erwarten, dass andere natürlich vorkommende Pyrone, wie Flavone, Anthocyane usw. ähnliche Umsetzungen geben.

3. Substitutionsreaktionen.

Nitroverbindungen.

Über Nitroverbindungen des Cumarins bestehen Arbeiten von verschiedenen Autoren. Die älteste Publikation stammt von *Delalande* (31). Weiter haben sich *v. Miller* und *Kinkelin* (32), *Simonis* und *Landsberger* (33) mit den Nitroverbindungen des *Cumarins* befasst. Je nach Wahl des nitrierenden Agens wurden Mono-, Di- und Tri-nitroderivate gewonnen. Da es sich hierbei um gefärbte und zumeist gut kristallisierende Verbindungen handelt, kann deren Verwendung für den Nachweis von Cumarinen in Betracht gezogen werden.

II. Reaktionen des aufgespaltenen Moleküls.

Die Aufspaltung des Lactonringes des *Cumarins* zur o-Oxyzimtsäure beziehungsweise dessen Alkalisalz erfolgt beim Erwärmen des *Cumarins* in Lauge. Die Cumarine sind, wie schon erwähnt wurde, bis auf wenige Ausnahmen in Wasser unlöslich. Das gleiche Verhalten zeigen sie gegenüber verdünnter Kali- und Natronlauge in der Kälte und bei kurzer Einwirkungsdauer. Bei längerer Einwirkung der Laugen, vor allem beim Erwärmen, lösen sich alle Cumarine mit gelber Farbe darin, unter der oben erwähnten Aufspaltung der Lactongruppe und Bildung der Alkalisalze der entsprechenden Cumarinsäuren (ortho-Oxyzimtsäuren). Diese leicht wasserlöslichen Salze sind nicht mehr ausätherbar, im Gegensatz zu den Cumarinen. Beim Ansäuern der alkalischen Lösung eines Cumarins mit Salzsäure wird die betreffende Cumarinsäure frei, ist aber in diesem Zustande äusserst unbeständig und geht unter Ringschluss spontan in das entsprechende Cumarin über.

Während dieser Umlagerung verschwindet die Gelbfärbung. Die Eigenschaft sämtlicher Cumarine, mit Lauge gelbgefärbte Cumarinate zu bilden, ist beachtenswert und im Verbande mit andern Cumarinreaktionen ein Hilfsmittel zu deren Erkennung. Wird *Cumarin* selbst längere Zeit mit Lauge oder mit Natriumäthylat gekocht und dann angesäuert, so tritt keine Cumarinfällung auf, wenn die Reaktion vollständig erfolgt ist. Es hat sich Cumarsäure gebildet, die beim Ansäuern nicht mehr zum Ringschluss neigt. Diese *o-Cumarsäure* ist leicht löslich in heissem Wasser und in Alkohol, schwerer in Äther und unlöslich in Chloroform und Schwefelkohlenstoff. Sie ist sublimierbar wie das *Cumarin,* aber im Gegensatz zu diesem nicht flüchtig mit Wasserdämpfen. Erst durch Halogenwasserstoffsäuren (34) oder bei der Bestrahlung mit Uviollicht (35) geht sie wieder in *Cumarin* über. Die *o-Cumarsäure* ist mit der *Cumarinsäure* isomer. Es liegt hier ein gleicher Isomeriefall vor wie zwischen Fumar- und Maleinsäure, wobei die eine Form, die sogenannte „malenoide" oder cis-Form, zur Anhydridbildung befähigt ist, die „fumaroide" oder trans-Form dagegen nicht, weil die reaktiven Gruppen im ersten Fall einander zugedreht sind, im zweiten Fall jedoch voneinander entfernt stehen.

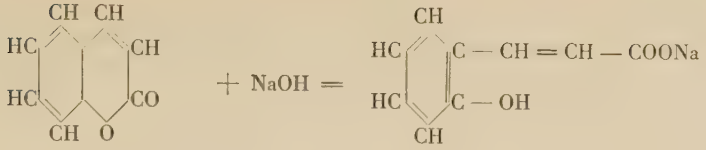
Die für sämtliche Cumarine typische Wechselbeziehung zwischen Lacton und Oxysäure beim Arbeiten in alkalischer oder saurer Lösung ist für uns sehr wichtig, weil die massgebenden Reaktionen, wie wir später sehen werden, von diesem charakteristischen Verhalten abhängig sind.

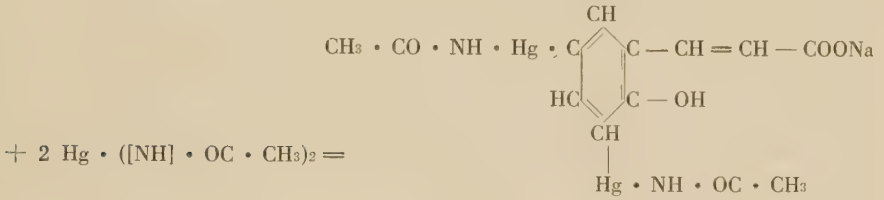
Auch eine Reihe von in der Literatur aufgeführten Umsetzungen der Cumarine beziehen sich auf den aufgespaltenen Lactonring, d. h. sie werden durchgeführt an der entsprechenden o-Oxycarbonsäure. Durch die Aufspaltung des Lactonringes wird die Additionsfähigkeit der Aethylengruppe, die gering ist im Vergleich zur Fähigket der Aethylengruppen im allgemeinen Halogene usw. leicht und glatt zu addieren, erhöht.

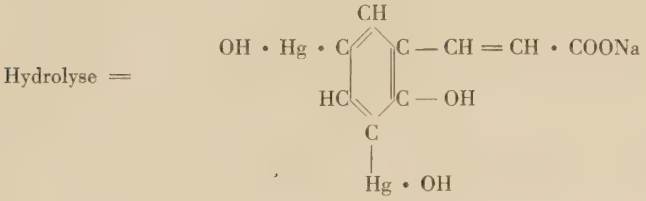
1. Quecksilberacetat- und Quecksilberacetamidverbindungen.

Wird zu einer ungefähr 1%igen kalten Lösung eines Cumarins in Wasser oder Alkohol eine 10%ige bis 15%ige wässrige oder entsprechend alkoholische Lösung von Quecksilberacetat oder -acetamid, die durch Zusatz von etwas verdünnter Essigsäure ganz schwach sauer reagieren soll, getäufelt, tritt keine Fällung auf, auch nicht nach längerem Stehenlassen. Sobald aber der Pyronring durch Erwärmen mit ungefähr 10 %iger wässriger Lauge geöffnet wird, entsteht nach vorangehender Abkühlung und äusserst sorgfältiger Neutralisation gegen Lackmus, beim Hinzufügen der wässrigen, schwach sauren und kalten Quecksilberacetat oder -acetamid-Lösung eine voluminöse, gelbgefärbte Fällung einer Dimercuri-Verbindung des cumarinsauren Salzes.

Naik und *Patel* (36) haben die Reaktion wie folgt formuliert:







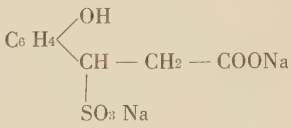
Mit Quecksilberacetamid entsteht ein 6:8-Bishydroxy-mercuri-cumarinsaures Salz.

Im vorliegenden Fall ist die o- und p-Stellung zur freien Hydroxyl-Gruppe beansprucht worden. Die Frage, was geschieht, wenn die eine oder andere dieser Stellen besetzt ist, hat auch *Naik* und *Patel* beschäftigt. Sie versuchten den Einfluss der Substituenten selbst, sowie deren Stellung im Benzol- und Pyronring aufzuklären. Zu diesem Zwecke behandelten sie 20 durch Synthese gewonnene Cumarine, die sowohl im Benzolring als auch im Pyronkern verschiedene Substituenten aufwiesen, beispielsweise 5:6-Dioxy-4-methyl-cumarin und 7-Oxy-4:5-dimethyl-cumarin. Dabei fielen die Reaktionen immer positiv aus. Sie erhielten Di- und Mono-mercuri-verbindungen je nach Substitutionsverhältnissen und beobachteten, dass z. B. eine Nitrogruppe abgesprengt wird und eine Hydroxylgruppe in eine phenolat-ähnliche Bindung -O • Hg • OH übergeht. Die Farben der Fällungen waren

grösstenteils hellgelb, gelb, mitunter rot. Offen blieb für uns die Frage, was geschieht, wenn 3 Stellen im Benzolkern besetzt sind, was bei den Furocumarinen oft zutrifft.

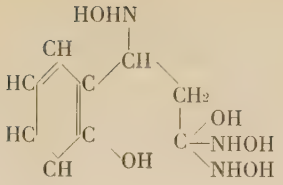
2. Natriumsulfit und Ferrichlorid.

Dey und *Row* (37) erhielten beim Erhitzen von *Cumarin* mit Natriumsulfit folgende Verbindung:



Die Reaktion verläuft wahrscheinlich in 2 Phasen. Zuerst erfolgt die Aufspaltung des Lactonringes, hierauf die Addition des Reagens an die Aethylengruppe des cumarinsauren Salzes:

1. $C_6H_4(OH) - CH$
$\quad\quad\quad



Trihydroxylaminverbindung

Bei Gegenwart von freiem Alkali und tiefer Temperatur, ungefähr 0°, entsteht ein Dihydroxylaminderivat. Höhere Temperatur, zirka 25°, und die Abwesenheit von Lauge fördern die Bildung der Trihydroxylaminverbindung. Beim Erwärmen mit Alkohol gehen beide Hydroxylaminprodukte in die β-Aminohydro-o-cumarsäure über. Diese Verbindung ist stabil. Sie neigt beim Ansäuren nicht mehr zum Ringschluss, ein Umstand, der für unsere Aufgabe zweckdienlich wäre, wenn es uns gelingen sollte, die β-Aminohydrocumarsäuren der Cumarine darzustellen. Das Entstehen einer solchen Aminohydrocumarsäure wäre ein Beweis für das Vorliegen eines Cumarins, wenn die Reaktion bei den Cumarinen allgemein durchführbar sein sollte; gelingt es, diese Aminohydrosäuren in charakteristische Derivate überzuführen, so wäre diese Hydroxylaminaufspaltung analytisch auswertbar. Darüber hinaus gilt hier das bei der Sulfitaufspaltung Gesagte, indem auch hier die ortho-ständige Hydroxylgruppe freigelegt und für den Nachweis zugänglich gemacht wird.

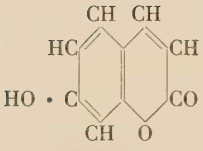
4. Bildung von Azoverbindungen.

Wird *Cumarin*, das in einer Kaliumkarbonatlösung aufgelöst wurde, mit Phenyldiazoniumchlorid gekuppelt, so entsteht nach *Borsche* (39) sofort eine rote Lösung von benzol-azo-cumarinsaurem Kalisalz. Auf Zusatz von Essigsäure wird das Kupplungsprodukt als schokoladebrauner Niederschlag abgeschieden, wobei aus dem Cumarinat durch Lactonisierung das entsprechende Cumarin gebildet wird.

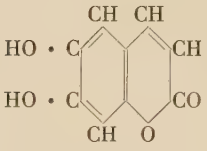
Zur Konstitutionsaufklärung dieser Verbindung wurde das Benzolazocumarin von *Borsche* auf synthetischem Wege aus Benzolazosalicylaldehyd nach *Perkin* dargestellt. Beide Produkte erwiesen sich als identisch.

Diese Azoverbindungen nach *Borsche* beanspruchen wegen ihres Farbstoffcharakters analytisches Interesse.

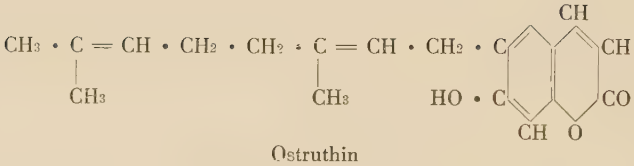
Die Cumarinformeln
der im Text erwähnten natürlichen Cumarine.



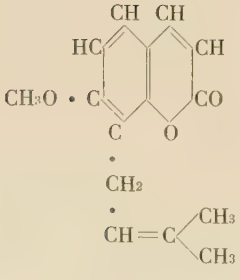
Umbelliferon



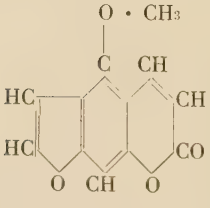
Aesculetin



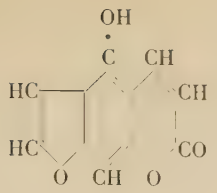
Ostruthin



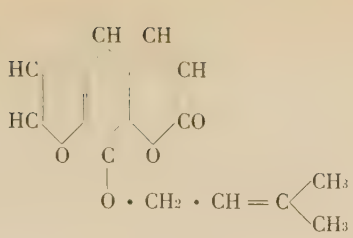
Osthol



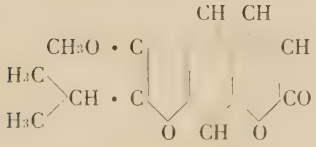
Bergapten



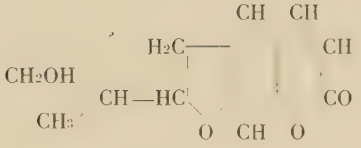
Bergaptol



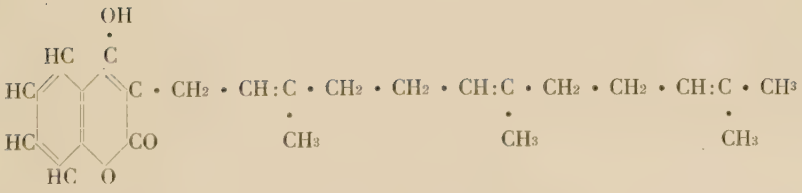
Imperatorin



Peucedanin



Nodakenetin



Ammoresinol

B. Experimenteller Teil.

1. Die Testcumarine.

a) Ihre Auswahl und Beschaffung.

Nach dieser Auslese von Cumarinreaktionen, bei der nur solche berücksichtigt wurden, die einige Aussicht auf Verwendbarkeit im Sinne der These dieser Arbeit haben, ist es nun unsere Aufgabe aus der Fülle der verschieden gearteten natürlichen Cumarine eine Anzahl auszuwählen, die Gewähr dafür bieten, dass sie als Repräsentanten sämtlicher bekannter natürlicher Cumarine gelten dürfen. Die Verschiedenartigkeit der Cumarine im Hinblick auf die Substituenten im allgemeinen, sowie deren Anordnung am Cumarinmolekül im speziellen, erschwerte die Wahl der Testcumarine, die auf Grund der Gruppeneinteilung von *Späth* auf Seite 9 dieser Arbeit getroffen wurde. Es wurden ausgewählt: das *Cumarin* als Vertreter der Gruppe der einfachen Cumarine; das *Umbelliferon* und das *Aesculetin* als Vertreter der zweiten Gruppe, der Oxycumarine; das *Ostruthin*, ein ebenfalls phenolisches Cumarin, das aber zudem noch kernalkyleniert ist und der dritten Gruppe angehört; das *Bergapten* und das *Imperatorin*, beides Furocumarine der vierten Gruppe, und als siebentes Cumarin, das *Peucedanin*, ein Furocumarin mit substituiertem Furankern. (Formeln vgl. Seite 22, 23.)

Einzelne natürlich vorkommende Cumarine liegen als Glycoside vor, wie z. B. *Aesculin*, *Daphnin*. Wenn bei den Testcumarinen keine solchen Glycoside mit einbezogen wurden, so geschah dies aus folgendem Grund: Wie wir später sehen werden, können alle Nachweisreaktionen der Cumarine an aus der Droge heraussublimiertem Material durchgeführt werden. Hierbei wird aus Glycosiden das Aglucon abgespalten, so dass auch glycosidisch gebundene Cumarine ohne weiteres erfasst werden können. Die Frage, ob Cumarine jeweilen in glycosidischer Bindung vorliegen, berührt diese Arbeit nicht und stellt eine von Fall zu Fall zu bearbeitende Aufgabe dar, wenn einmal der Cumarinnachweis in einer Droge grundsätzlich erbracht worden ist.

Von den sieben Testcumarinen wurden das *Imperatorin* aus den Früchten von *Angelica Archangelica* und das *Bergapten* aus Destillationsrückständen von *Oleum Bergamottae* isoliert. Die übrigen Testsubstanzen konnten aus dem Handel bezogen werden. Vor der Verwendung wurden sämtliche Testcumarine mit Hilfe des Schmelzpunktes auf ihre Identität geprüft.

Die Isolierung des *Imperatorins* und des *Bergaptens* erfolgte nach der Methode von *Späth* (10). Bei dieser Isolierungs- und Trennungsmethode wird das typische Verhalten der Cumarine als Lactone ausgenützt. Der Arbeitsvorgang ist bei sämtlichen nicht phenolischen Cumarinagluconen derselbe. Er verläuft nach folgendem Schema:

Erschöpfende Extraktion des gepulverten Pflanzenmaterials mit Äther. Ausschütteln des Ätherextraktes mit verdünnter Lauge zur Abtrennung saurer und phenolischer Bestandteile. Abdestillieren des Äthers und Verseifung des Rückstandes mit Lauge: Cumarinatbildung. Abtrennung des Unverseifbaren mit Äther und Ringschliessen der in der Lauge verbliebenen Cumarinate mit Säure zu Lactonen. Ausäthern und Abscheidung der mit den ringgeschlossenen Lactonen in den Äther übergegangenen Fettsäuren mit verdünnter Lauge. Abdestillieren des Äthers und nachfolgende Reinigung der Cumarine. An Stelle des Aetherauszuges kann oder muss oft sogar eine Extraktion mit Alkohol treten.

Das Vorliegen von Cumaringlycosiden kann man feststellen, indem man den wasserlöslichen Anteil des alkoholischen Extraktes mit Aether von Fremdstoffen befreit, hierauf mit verdünnter Schwefelsäure die Glycosidspaltung durchführt und die erhaltenen Aglucone nach dem angegebenen Verfahren der Prüfung auf Cumarine unterzieht.

Die phenolischen Oxycumarine gehen beim Behandeln mit verdünnter Lauge in die wässrige Lösung über und können durch ansäuren und ausäthern gesammelt und von den zumeist vorhandenen Fettsäuren durch Petroläther in der Hauptsache getrennt werden.

Die Isolierung des Imperatorins nach *Späth* und *Vierhapper* (40):

2 kg des gemahlenen und durch Sieb III geschlagenen Pulvers von *Fructus Angelicae (Angelica Archangelica)*, belgischer Herkunft (Lieferant AG. vorm. B Siegfried, Zofingen), wurden mit 6 kg Äther 48 Stunden lang in einem Extraktionsapparat fortlaufend ausgezogen. Vom extrahierten Drogenpulver wurden 50,0 g nochmals in einem Soxleth-apparat mit 200 ccm Äther 3 Stunden lang der Extraktion unterworfen. Der Äther wurde abdestilliert und der Rückstand gewogen. Sein Gewicht betrug 0,3 g. Diese zweite Extraktion diente als Prüfung auf die Totalextraktion des Drogenpulvers. Auf Grund dieses Resultates konnte die Hauptextraktion eingestellt werden. Der Ätherauszug wurde filtriert und der Äther abdestilliert. Als Rückstand hinterblieb eine grüne, noch wasserhaltige Extraktbrühe von 210,0 g, in der sich nach mehrstündigem Stehenlassen Kristallbündel zeigten. Diese Extraktbrühe nahm man nochmals in Äther auf, filtrierte das Ungelöste ab, versetzte die Ätherlösung mit reinem und getrocknetem Natriumsulfat und liess sie einen Tag lang stehen. Dann wurde die entwässerte Ätherlösung destilliert. Aus dem Rückstand schieden sich schon beim Erkalten Kristalle aus. Er wurde mit 600 ccm tiefsiedendem Petroläther aufgenommen, tüchtig umgeschüttelt und 24 Stunden lang im Eisschrank aufbewahrt. Dann saugte man die Petrolätherlösung ab. Diese Petrolätherlösung wurde nicht weiter verarbeitet. Nach *Späth* enthält sie *Umbelliprennin*. Den Rückstand (Fraktion A) teilten wir durch warmes Ausziehen mit Äther in einen in Äther leichter löslichen Anteil A_1

und in einen in Äther schwerer löslichen Anteil A_2 auf. Der Anteil A_2 wurde nicht weiter verarbeitet. Dieses Zerlegen des Rückstandes, der Fraktion A, in die beiden Anteile A_1 und A_2 erfolgte zuerst probeweise mit 5,0 g der Substanz. Dabei nahmen wir den Rückstand mit wenig Äther auf, erwärmten rasch auf dem Wasserbad und nutschten ab. Der gesamte griesartig und bräunlichgelb aussehende Anteil A_1 wurde zwölfmal mit tiefsiedendem Petroläther auf dem Wasserbad eine halbe bis eine Stunde lang ausgelaugt. Das Ungelöste liess man sich absetzen, filtrierte sorgfältig und bewahrte die Petrolätherlösung 1 bis 2 Stunden im Eisschrank auf. Dabei schieden sich schöne Kristallbüschel von schwach gelblicher Farbe aus. Die Petrolätherlösung verwendete man immer wieder zur neuen Extraktion des griesartigen Rückstandes. Die Kristalle selbst wurden in Alkohol gelöst, unter Kohlezusatz aufgekocht, abfiltriert und mit Wasser versetzt. Es entstand jeweils sofort eine weisse Fällung, die sich nach kurzem Stehenlassen zusammenballte und leicht abgenutscht werden konnte. Wir klatschten diese Fällung noch nass ab und trockneten sie. Das derart ausgefällte *Imperatorin* bestand aus sehr feinen weissen Nadeln und sah filzartig aus. Nach *Späth* liefern die ersten 7 Petrolätherauszüge sehr reines *Imperatorin*. Aus diesem Grunde wurden die ersten 6 Fraktionen von den restlichen Auskristallisationen aus der Petrolätherlösung abgesondert und ein zweites Mal aus Alkohol umkristallisiert. Dann wurde eine Schmelzpunktbestimmung durchgeführt. Der Schmelzpunkt betrug 102 °. Er stimmt mit dem für *Imperatorin* in der Literatur angeführten Schmelzpunkt überein. Die Ausbeute der Rein-imperatorinfraktionen betrug 1,2 g. Die Gesamtausbeute an Reinfraktionen und restlichen, nicht näher auf ihre Reinheit geprüften Fraktionen betrug 3,5 g, was einem Cumaringehalt von 0,17 % entspricht. Nach *Späth* enthalten die als restliche Fraktionen bezeichneten Kristallisationen *Bergapten*, welches nur mit Hilfe der Hochvakuumdestillation vom *Imperatorin* getrennt werden kann, weshalb auf eine weitere Behandlung dieses Anteils verzichtet wurde.

Die Isolierung des *Bergaptens:*

Als Ausgangsmaterial dienten 100,0 g *Bergapten*-haltige Destillationsrückstände aus Bergamotte-Öl von *Schimmel*, die eine grünlichbraun gefärbte, stark nach Bergamotte-Öl riechende, mellasse-artige Masse darstellten. Die Aufarbeitung erfolgte in Anlehnung an die allgemeine Isolierungsmethode von *Späth* (10).

Die klebrige Masse wurde mit 800 ccm Äther aufgenommen, einige Zeit stehen gelassen und dann filtriert. Durch diese Ätherlösung tropfte man 500 ccm 1%ige, wässrige Kalilauge und schüttelte die Ätherlösung, nach dem Abtrennen vom Laugenanteil, noch zweimal mit je 200 ccm 1%iger, wässriger Kalilauge aus. Ein direktes Ausschütteln von Anfang an wurde wegen der Emulgierungsgefahr absichtlich vermieden. Die so von sauren und

phenolischen Anteilen befreite Ätherlösung unterwarf man der Destillation und erhitzte den vom Äther befreiten Rückstand mit 400 ccm 5%iger, weingeistiger Kalilauge 1 Stunde lang am Rückflusskühler auf dem Wasserbad. Dann wurde der Weingeist abdestilliert, der Rückstand auf das vorherige Volumen mit Wasser verdünnnt und der Lösung das Unverseifbare durch Ausäthern entzogen. Zu der Laugenlösung gab man Salzsäure bis zur stark sauren Reaktion und schüttelte die saure Lösung dreimal mit je 200 ccm Äther aus, um ihr das wieder ringgeschlossene Lacton zu entziehen. Die vereinigten Ätherlösungen wurden hierauf nochmals mit 2 %iger Kalilauge ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet und der Äther abdestilliert. Den Rückstand, einen noch verunreinigten Kristallbrei, unterwarfen wir im Vakuum bei 180 ° und zirka 10 mm Quecksilbersäule der Sublimation (Apparatur siehe Seite 52). Nach dreimaliger Sublimation erhielten wir reine, weisse Kristallnadeln vom Schmelzpunkt 192 °. (Schmelzpunkt der Literatur 191° bis 192,5°.) Ausbeute 0,45 g.

b) Die Löslichkeit der Testcumarine.

Bei der Durchführung der Cumarinreaktionen sind, wie wir sehen werden, besonders die Löslichkeitsverhältnisse in Wasser und in Äther zu be-

Löslichkeitstabelle der Testcumarine.

	H_2O kalt	H_2O heiss	Äther	Alkohol 90%
Cumarin	schwer	leichter	leicht	leicht
Umbelliferon	schwer	leicht	ziemlich leicht	leicht
Aesculetin	schwer	leicht	fast unlöslich	leicht
Ostruthin	unlöslich	unlöslich	leicht	leicht
Bergapten	unlöslich	unlöslich	leicht	leicht
Imperatorin	unlöslich	unlöslich	leicht	leicht
Peucedanin	unlöslich	unlöslich	leicht	leicht
Cumarinate	leicht	leicht	unlöslich	

rücksichtigen. Daher wurde für die Testcumarine eine entsprechende Tabelle beigefügt. Ergänzend sei zu dieser Tabelle erwähnt, dass auch die übrigen bekannten Cumarine, mit Ausnahme einiger weniger, von phenolischem Charakter durchwegs schwer oder unlöslich in Wasser und leichtlöslich in Äther sind.

2. Die Prüfung der Cumarinreaktionen an den Testcumarinen.

A. Die Prüfung auf physikalischem Wege.

1. Sublimation.

Wie auf Seite 15 erwähnt, kommt die Sublimation als physikalische Charakterisierungsmethode nicht in Frage. Wir werden aber sehen, dass sie zur Isolierung der Cumarine aus Drogen gute Dienste zu leisten vermag. (Seite 51.)

2. Fluoreszenz.

Zahlreiche Cumarine fluoreszieren in fester und in gelöster Form. Dabei sind es vor allem die phenolischen Cumarine, deren Fluoreszenz schon beim Beobachten mit blossem Auge auffällt.

Eine Ausnahme macht bei den phenolischen Cumarinen das *Daphnetin*, das nach Angaben von *Späth* (41) in Lösungen nicht fluoresziert. Dies ist eigenartig, wenn man berücksichtigt, dass das *Aesculetin*, welches in alkoholischer und in wässriger Lösung mit und ohne Zusatz von Alkali sehr deutlich fluoresziert, sich vom *Daphnetin* nur durch die Stellung der beiden phenolischen Hydroxylgruppen am Benzolkern unterscheidet. *Aesculetin* ist 6,7-Dioxy-cumarin, während *Daphnetin* das 7,8-Dioxy-cumarin darstellt.

a. Die Fluoreszenz der gelösten Testcumarine beim Beobachten in diffusem Licht.

Als Lösungsmittel wurden Wasser, Alkohol (90%), Kalilauge (10%), Ammoniak (10%), Schwefelsäure (10%) und Eisessig gewählt. Die Konzentration der Cumarinlösungen betrug 1%. Sie ist bei Einhaltung nicht allzu extremer Grenzkonzentrationen ohne wesentlichen Einfluss auf die Fluoreszenz. Die Resultate wurden auf Seite 29 tabellarisch dargestellt.

Aus der Tabelle ist vor allem ersichtlich, dass keineswegs jedes der geprüften Cumarine in jedem Lösungsmittel von blossem Auge sichtbare Fluoreszenzerscheinungen zeigt. Vor allem ist daraus zu entnehmen, dass es Lösungsmittel gibt, in denen die Fluoreszenz durchwegs negativ ist, wie Schwefelsäure und Eisessig. Bei den in Wasser unlöslichen Cumarinen *Bergapten*, *Imperatorin* und *Peucedanin* gelang es überhaupt nicht mit den verwendeten Lösungsmitteln eine Fluoreszenzerscheinung sichtbar zu machen. Die oben gemachte Angabe, dass vor allem bei den phenolischen Cumarinen eine auffallende Fluoreszenz schon beim Beobachten im diffusen Licht zu erkennen ist, wird durch die in der Tabelle vermerkten Befunde bestätigt.

Fluoreszenz der Testcumarine, in diffusem Licht beobachtet.

	Cumarin	Umbelliferon	Aesculetin	Ostruthin	Bergapten	Imperatorin	Peucedanin
Wasser	negativ	*blau*	*blau*	unlöslich	unlöslich	unlöslich	unlöslich
Alkohol 90%	negativ	negativ	*blau*	*blau*	negativ	negativ	negativ
Kalilauge 10%	negativ	*blau*	*gelbl. grün*	*blau*	negativ	negativ	negativ
Ammoniak 10%	grün	*blau*	*grünl. blau*	*grünl. blau*	negativ	negativ	negativ
Schwefelsäure 10%	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
Eisessig	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ

b. Die Beobachtung der Fluoreszenz unter der Analysenquarzlampe.

Zur Beobachtung gelangten ausser den Testcumarinen auch deren in 10%iger Kalilauge gelösten Cumarate. In die Untersuchung mit einbezogen wurden die Sulfitverbindungen der Testcumarine (siehe Seite 39), die durch Erhitzen mit 10%iger Salzsäure von der überschüssigen schwefligen Säure befreit und dann in 10%iger Natronlauge gelöst wurden. Im weiteren gibt die nachfolgende Tabelle (Kolonne I) auf Seite 30 nähere Auskunft über die verwendeten Lösungsmittel.

Zur Beobachtung gelangten durchwegs 0,1%ige erkaltete Lösungen. Da die Farbtöne bei den einzelnen Cumarinen sehr variabel sind, wurden diese in der Tabelle nicht aufgeführt, sondern es wurde lediglich die Grundfarbe festgelegt. Eine Ausnahme wurde bei den Cumaraten gemacht, indem die festgestellten Farbnuancen in Klammern beigefügt wurden.

Aus der Tabelle ist zu entnehmen, dass:

1. nicht alle Cumarine in den gewählten Lösungsmitteln fluoreszierten, auch wenn sie darin löslich sind. Dies gilt für *Cumarin, Imperatorin* und *Peucedanin. Umbelliferon, Aesculetin, Ostruthin* und *Bergapten* fluoreszierten in sämtlichen Lösungsmitteln;
2. wenn Fluoreszenz auftritt, die Grundfarbe blau oder grün ist;
3. mit Ausnahme des *Peucedanins* auch sämtliche Sulfitverbindungen der Testcumarine fluoreszierten;
4. die Cumarate sämtlicher Testcumarine grün fluoreszierten.

Zusammenfassend geht aus den geschilderten Versuchen hervor, dass auf jeden Fall nicht jedes Cumarin in jedem Lösungsmittel Fluoreszenzerscheinung zeigt und zwar auch nicht unter der Analysenquarzlampe. Daraus ergibt sich die logische Folgerung, dass man, will man die Anwesenheit von Cumarinen durch Fluoreszenz feststellen, diese in mehreren Lösungsmitteln zu prüfen hat. Hierbei ist unter allen Umständen die Beobachtung im UV-Licht jener im diffusen Licht weit vorzuziehen. Weiterhin ist in der Beurteilung der Fluoreszenz selbstverständlich insofern Vorsicht geboten, als es auch andere Pflanzenstoffe gibt, die Fluoreszenzerscheinungen zeigen.

Die Fluoreszenz der Testcumarine unter der Analysenquarzlampe.

	Cumarin	Umbelliferon	Aesculetin	Ostruthin	Bergapten	Imperatorin	Peucedanin
Lösung in Kalilauge 10% Cumarinate	grün	blau	grün	blau	grün	negativ	grün
Als Cumarate gelöst in Kalilauge	grün (helles grün)	grün (mattes grün)	grün (helles grün)	grün (mattes grün)	grün (helles grün)	grün (bräunl. grün)	grün (gelbl. grün)
Als Sulfitverbindung in NaOH gelöst	grün	blau	blau	blau	blau	grün	negativ
Lösung in Ammoniak 10%	grün	blau	blau	blau	blau	negativ	grün
Lösung in Alkohol 90%	negativ	blau	blau	blau	blau	grün	negativ
Lösung in H_2SO_4 10%	negativ	grün	blau	blau	grün	negativ	blau
Lösung in Eisessig	negativ	blau	blau	blau	blau	grün	negativ
Lösung in Wasser	grün	blau	blau	unlöslich	unlöslich	unlöslich	unlöslich

Unter Berücksichtigung dieses Vorbehaltes und genannter Vorsichtsmassregeln kann gesagt werden, dass die Feststellung der Fluoreszenz für das Auffinden von Cumarinen zwar ein wertvolles Hilfsmittel, keinesfalls aber ein analytisches Beweismittel sein kann. Tritt unter der Quarzlampe Fluoreszenz auf, so *kann* ein Cumarinderivat vorliegen. Tritt keine Fluoreszenz auf, so ist damit die Gegenwart eines solchen nicht unbedingt ausgeschlossen. Die Prüfung mit Fluoreszenz leistet dementsprechend nur dann zweckmässige Dienste, wenn sie mit andern Prüfungen kombiniert wird.

3. Die Jodadsorption der Testcumarine (siehe Seite 15).

Zur Darstellung der Jodadsorptionsverbindungen wurden nach *Barger* und *Starling* (25) die Lösungen der zu untersuchenden Cumarine in Alkohol

oder Eisessig in Gegenwart von Jod durch Wasser ausgefällt. Die Ausfällungen bestanden aus Nadeln und Nadelbüscheln und waren bei den einzelnen Cumarinen verschiedenartig gefärbt.

Die Ausfällung der Jodadsorptionsverbindungen aus Lösungen in Alkohol oder Eisessig mit wässrigen Jodjodkalilösungen ist nur bei den Cumarinen durchführbar, die an sich in Wasser unlöslich oder zum mindesten sehr schwer löslich sind. Von den Testcumarinen kamen deshalb nur *Cumarin, Ostruthin, Bergapten, Imperatorin* und *Peucedanin* in Frage.

Die Empfindlichkeit der Reaktion wurde beim *Cumarin* festgestellt. Dazu wurden abgemessene Mengen von alkoholischen Cumarinlösungen mit einem bestimmten Cumaringehalt sorgfältig zu wässrigen 2 n Jodjodkali-Lösungen zufliessen gelassen und dabei die Ausfällungen an der Berührungszone beider Flüssigkeiten beobachtet. Ausgegangen wurde von einer Cumarinstandardlösung, die 0,1 g *Cumarin* in 10 ccm 90%igem Alkohol gelöst enthielt, wobei bei fortgesetzter Verdünnung der Standardlösung mit Alkohol eine nur mehr 0,00005 g *Cumarin* enthaltende Lösung noch eine Ausfällung feiner pleochroitisch schimmernder Nadeln ergab. Entsprechende Empfindlichkeit zeigten *Bergapten, Imperatorin, Ostruthin* und *Peucedanin.*

Für die wasserlöslichen Cumarine, wie *Umbelliferon* und *Aesculetin,* hat *Barger* eine Vorschrift angegeben, nach welcher die Fällung aus alkalischer Lösung möglich ist. Wir haben diese Reaktion am *Umbelliferon* und *Aesculetin* auf ihre Empfindlichkeit geprüft. Zu diesem Zwecke löste man *Umbelliferon* und *Aesculetin* in 10%iger Kalilauge in verschiedenen Konzentrationen und liess die oben genannte Jodjodkalilösung zufliessen. Eine Ausfällung der Jodadsorptionsverbindung trat beim *Umbelliferon* erst bei einer 10%igen Lösung des phenolischen Cumarins in Kalilauge auf. Analog liegen die Verhältnisse beim *Aesculetin,* das erst in 15%iger Lösung als Jodadditionsverbindung ausgefällt werden konnte.

Bei dem Versuche, Perjodidverbindungen der Cumarine darzustellen (Seite 33), wurde die Beobachtung gemacht, dass sich die Testcumarine schon in fester Form mit Jodjodkalilösung färben. Weil nun das Arbeiten in Lösungen aus genannten Gründen für analytische Zwecke wenig Interesse bietet, wurden Versuche mit der Direktfärbung der festen Cumarine angestellt. Wir erwähnten auf Seite 28 dass die Isolierung der Cumarine aus den Drogen durch Sublimation erfolgt. Somit lag es nahe, die Färbung, d. h. die Jodadsorption, direkt an den Sublimaten zu prüfen. Bei diesem Vorgehen berücksichtigten wir erstens Verhältnisse, wie sie beim praktischen Nachweis tatsächlich auftreten können, und zweitens hatten wir den Vorteil einer sehr feinen Verteilung der zu untersuchenden Substanz erreicht.

Die Untersuchung wurde folgendermassen durchgeführt:

Sämtliche auf Deckgläschen aufgefangenen Sublimate der Testcumarine wurden unter dem Mikroskop direkt mit einer Spur 2 n Jodjodkalilösung

versetzt, so dass nicht das ganze Sublimat davon bedeckt wurde. Mit Hilfe eines feinen Glasstäbchens wurden hierauf, vom Jodjodkalitropfen ausgehend, feine Striche über das Sublimat gezogen, oft noch unter Zusatz einer Spur Wasser. Die Reaktion liess sich auf diese Weise sehr gut beobachten, indem sich die Sublimate bzw. die Cumarinkristalle längs der gezogenen Jodjodkalistrichen entsprechend färbten. Die Färbung trat jeweils sofort auf.

Es ist nicht sehr einfach, die Färbungen der verschiedenen Testcumarine zu beschreiben, vor allem infolge des auftretenden Pleochroismus. Die Farbnuancen spielen aber insofern nur eine nebensächliche Rolle, als es im wesentlichen einfach darauf ankommt, ob bei dieser Nachweisreaktion die pleochroitisch gefärbte Jodadsorptionsverbindung überhaupt entsteht oder nicht. Deshalb wird auch später bei der Prüfung von Drogen mittelst dieser Reaktion (siehe Seite 61) lediglich angegeben, ob der Ausfall positiv oder negativ ist. Der Vollständigkeit wegen mögen aber hier die mit den Testcumarinen erhaltenen Farbnuancen aufgeführt werden.

Substanz:	Färbung: (nach dem Antrocknen beobachtet)
Cumarin	bronze bis dunkel (matt) grün
Aesculetin	blau bis blau-violett
Umbelliferon	gelb bis rötlich-braun
Ostruthin	gelb bis bräunlich-gelb
Bergapten	blau-violett bis stahlgrau
Imperatorin	gelb bis rotbraun
Peucedanin	grünlichgrau bis dunkelgrau

Die durchgeführten Versuche zeigen, dass die Herstellung von Jodadsorptionsverbindungen der Cumarine sich zum Nachweis dieser Substanzen eignet, sofern man sie im Trockenpräparat, am besten am Mikrosublimat, ausführt und diese Färbungen gegebenenfalls unter dem Mikroskop beobachtet. Es ist klar, dass aus den bei den Testcumarinen gemachten Befunden nicht der bindende Schluss gezogen werden kann, dass sämtliche Cumarine in der geschilderten Ausführungsform der Reaktion positiven Ausfall zeigen. Immerhin darf der Reaktion doch weitgehend beweisender Charakter zugebilligt werden, indem nicht nur alle Testcumarine sich ein-

deutig positiv verhielten, sondern indem auch *Barger* (25) mit synthetischen Cumarinen die Reaktion erhielt.

Aber auch hier ist der positive Ausfall der Reaktion immer unter Vorbehalt zu werten, weil die Cumarine nicht die einzigen in Pflanzen in Frage kommenden Substanzen sind, die derartige Jodadsorptionsverbindungen geben. So hat *Barger* analoge Jodadsorptionsverbindungen mit γ-Pyronen hergestellt, und *Brunswik* (42) benützt die Reaktion zum mikrochemischen Nachweis von *Flavon*. Da gerade Flavonderivate in Drogen sehr verbreitet sind, besteht natürlich die von uns nicht nachgeprüfte Möglichkeit, dass bei diesen Reaktionen auch solche Verbindungen einen positiven Ausfall geben und ein Cumarin vortäuschen können. Dementsprechend ist der Nachweis von Cumarinen als Jodadsorptionsverbindungen eine sicher wertvolle Hilfsreaktion, die aber, wie der Nachweis durch Fluoreszenz, auch nur orientierenden Wert hat und nur unter gleichzeitiger Herbeiziehung weiterer Nachweisreaktionen verwendet werden sollte.

B. Die chemische Prüfung.

I. Reaktionen des unveränderten Moleküls.

1. Additionsreaktionen.

Anlagerung von Brom (Seite 15).

Eine Anreibung von 0,1 g *Cumarin* mit 0,5 ccm Schwefelkohlenstoff, der man 0,4 ccm einer Lösung von Brom in Schwefelkohlenstoff beifügte, wurde bei Zimmertemperatur möglichst dem Sonnenlicht ausgesetzt. Nach mehr als zwölfstündiger Einwirkung hinterblieb nach dem freiwilligen Verdunsten des Schwefelkohlenstoffs ein kristallinischer Rückstand, der nach *Perkin* (43) aus Cumarindibromid besteht. Die gleiche Reaktion wurde mit je 0,1 g *Umbelliferon* und *Aesculetin* durchgeführt und auch bei diesen Cumarinen eine Kristallbildung erst nach 12 Stunden beobachtet.

In weiteren Versuchen wurden je 0,1 g *Cumarin, Umbelliferon* und *Aesculetin* mit 0,5 ccm Eisessig aufgeschlämmt und hierauf direkt mit Brom versetzt. Eine Beschleunigung der Reaktion konnte auch hier nicht festgestellt werden.

Die Versuche wurden nicht weitergeführt, weil die resultierenden Cumarindibromide zu wenig charakteristisch waren, dass es sich gelohnt hätte, eine so lange Reaktionszeit in Kauf zu nehmen.

Perjodide. (Seite 16).

Cumarin-jodkalium-perjodid: Zur Herstellung des Cumarin-jodkalium-perjodids wurden 1,0 g *Cumarin* in 160 ccm Wasser unter Zusatz von 5,0 g

Kaliumjodid bis zur Lösung des Cumarins erhitzt. Gleichzeitig wurden 1,0 g Jod und 3,5 g Kaliumjodid mit der zur Lösung erforderlichen Menge Wasser angerieben, in kleinen Portionen heiss der kochenden Cumarinlösung unter Umschütteln beigefügt und die Mischung noch ungefähr 1 Stunde lang auf dem Wasserbad weiter erhitzt. Bei langsamer Abkühlung schieden sich nach mehrstündigem Stehenlassen schöne, lange, dunkelblau-grün-schillernde Nadeln aus, die mit Jodkaliumlösung ausgewaschen werden können, während sie beim Waschen mit Wasser sich augenblicklich zersetzten.

Umbelliferon-jodkalium-perjodid: 0,2 g *Umbelliferon* in 30 ccm Wasser gelöst (plus 5%iger Kalijodid-Zusatz) ergab mit einer Lösung von 0,2 g Jod und 1,0 g Jodkali in 3 ccm Wasser unter analogen Verhältnissen, wie sie bei der Darstellung des Cumarin-jodkalium-perjodid innegehalten wurden, ein Umbelliferon-jodkalium-perjodid. Die auskristallisierten Nadeln hatten ebenfalls pleochroitischen Farbcharakter und zersetzten sich momentan beim Auswaschen mit Wasser.

Aesculetin-jodkalium-perjodid. Unter Einhaltung gleicher Mengenverhältnisse und genauer Berücksichtigung der oben angeführten Arbeitsbedingungen wurde ein Aesculetin-jodkalium-perjodid erhalten. Die Kristalle schimmerten pleochroitisch. Mit Wasser trat Zersetzung ein.

Versuch zur Darstellung der Perjodide des Bergaptens, Imperatorins, Peucedanins und Ostruthins. Die Testcumarine *Bergapten, Imperatorin, Peucedanin* und *Ostruthin* unterscheiden sich von den übrigen dadurch, dass sie in Wasser unlöslich sind. Dementsprechend musste in der Darstellungsmethode der Perjodide eine Änderung vorgenommen werden, indem die Cumarine in alkoholischer Lösung mit Jodjodkalilösung in Reaktion gebracht wurden. Man löste 0,2 g der Cumarine in möglichst wenig Weingeist, gab 3 ccm der oben erwähnten Jodjodkalilösungen hinzu (siehe Umbelliferon-jodkalium-perjodid), erhitzte eine halbe bis eine Stunde in offenem Gefäss im Wasserbad, wobei die Hauptmenge des Alkohols verdunstete. Nach dem Erkaltenlassen schieden sich schön pleochroitisch schimmernde Nadeln aus. Diese Kristalle stellen aber kein Perjodid dar, sondern eine Jodadsorptionsverbindung (vergl. Seite 30), denn im Gegensatz zu den Perjodidverbindungen wurden sie durch Auswaschen mit Wasser nicht zersetzt. Es gelang nicht, die Perjodide der genannten 4 Testcumarine zu erhalten, weshalb der Nachweis der Cumarine in Form der Perjodide als analytische Methode nicht in Frage kommt.

Metallverbindungen. (Seite 16).

Zur Darstellung von Cumarinmercurichlorid nach *Clayton* (29) wurden 0.2 g *Cumarin* in 2 ccm Weingeist gelöst und hierauf mit einer Lösung von 0.5 g Mercurichlorid in 5 ccm Weingeist versetzt. Eine kristallinische Abscheidung konnte erst nach 2 Tagen beobachtet werden. Da analoge Komplexverbindungen mit Platinchlorid, Goldchlorid und Kaliumkobaltizyanid nach

Angaben von *Morgan* und *Miklewaith* zu ihrer Bildung längere Zeit bedürfen, und, wie auf Seite 17 angegeben, analoge Verbindungen mit Flavonen, Anthocyanen usw. zu erwarten sind, wurde auf die weitere Heranziehung derartiger Metallverbindungen zum Nachweis der Cumarine verzichtet.

Nitroverbindungen. (Seite 17).

Eine Anreibung von 0,2 g *Cumarin* mit 2 ccm Eisessig wurde mit einer Lösung von 0,6 g Salpetersäure (65%) in 2 ccm Eisessig auf dem Wasserbad erhitzt. Es trat rasch lebhafte Gelbfärbung auf und die Flüssigkeit erstarrte nach kurzer Zeit zu einem gelb gefärbten Kristallbrei. Die einzelnen gelb gefärbten Kristalle zeigten beim Betrachten unter dem Mikroskop rhomboedrische Formen. Kristalline Nitrokörper wurden auch mit *Aesculetin* und *Bergapten* erhalten. Weitere Testcumarine wurden nicht geprüft. Die Möglichkeit, dass verschiedene Nitrierungsstufen auftreten können, hat uns veranlasst, von der Nitrierung der Cumarine als Nachweisreaktion abzusehen. Im weitern ist zu sagen, dass sich viele organische Substanzen auf diese Weise nitrieren lassen und somit eine Schmelzpunktbestimmung der Nitrocumarine unerlässlich wäre, die aber beim Vorliegen verschiedener Nitrierungsstufen illusorisch wird.

II. Reaktionen des aufgespaltenen Moleküls.

Quecksilberacetat- und Quecksilberacetamid-Verbindungen.

Auf Seite 18 sind die theoretischen Voraussetzungen festgelegt worden. Hier wird die Einwirkung der beiden Quecksilbersalze auf die Testcumarine geprüft und die Empfindlichkeit dieser Reaktionen untersucht.

Verwendete Reagentien:

a) Eine 15%ige schwach essigsaure Lösung von Quecksilberacetat in Wasser.

b) Eine 15%ige schwach essigsaure Lösung von Quecksilberacetamid in Wasser.

c) Eine weingeistige Lösung von Phenolphthalein (1 : 300).

Quecksilberacetamid wurde nach einer Vorschrift von *Schoeller* (44) frisch hergestellt:

Man schmolz in einer Porzellanschale 30,0 g reines Acetamid direkt auf dem Drahtnetz und trug in die Schmelze 40,0 g gelbes Quecksilberoxyd ein. Die Temperatur wurde langsam, unter ständigem Umrühren auf *180°* gesteigert, wobei sich das Oxyd in eine gelbbräunliche Schmelze verwandelte. Letztere trug man in ungefähr 400 ccm Wasser ein, worin sie sich zum grössten Teil löste. Dann wurde abfiltriert. Die Filtration verläuft sehr mühsam.

weshalb man besser das Ungelöste sich absetzen lässt und dann erst filtriert. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbad zur Trockene eingedampft, der Rückstand in Methylalkohol gelöst und daraus auskristallisieren gelassen.

Ausführung der Reaktionen:

Von sämtlichen Testcumarinen wurden 0,01 g genau abgewogen und in 2 ccm 10%iger Kalilauge auf dem Wasserbad bis zur völligen Lösung der Cumarine erwärmt.

Bei der Durchführung der Prüfung mit sehr wenig Substanz, beispielsweise mit Mengen wie sie bei der Sublimation aus der Droge erhalten wurden, wurde jeweils direkt am Mikrobrenner erhitzt. Es genügten zur Lösung wenige Minuten.

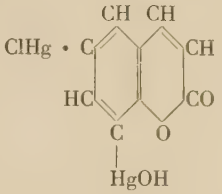
Die gelben, gelb- bis rötlich-braunen alkalischen Lösungen der Testcumarine wurden in den aus der Tabelle auf Seite 38 ersichtlichen Abstufungen verdünnt. Von diesen Verdünnungen gelangten je 1 ccm zur weiteren Prüfung. Man versetzte nach Zugabe eines Tropfens Phenolphthalein mit ungefähr 5%iger Essigsäure bis zur annähernd neutralen Reaktion, dann weiter noch mit essigsaurem Wasser bis zur genauen Neutralität gegen Lackmus. Diese genaue Neutralisation ist äusserst wichtig, weil das labile cumarinsaure Salz in saurer Lösung sofort den Lactonring bildet und als Cumarin ausfällt. Das Phenolphthalein erleichtert die genaue Neutralisation. Die neutralisierten, kalten Lösungen der Cumarine wurden hierauf das eine Mal mit einem Tropfen Quecksilberacetat, das andere Mal mit einem Tropfen Quecksilberacetamid versetzt.

Die in der Zusammenstellung auf Seite 38 angeführten Fällungen bzw. Trübungen entstanden jeweils sofort. Wo dies nicht der Fall war, ist dies entsprechend vermerkt. Diese Fällungen und Trübungen sind die auf Seite 19 erwähnten schwerlöslichen Di- oder Monomercuriverbindungen der entsprechenden cumarinsauren Salze.

Um zu prüfen, ob nicht ähnliche Quecksilberverbindungen mit den nicht aufgespaltenen Cumarinen entstehen, wurden Kontrollreaktionen durchgeführt. Hierzu versetzte man die wasserlöslichen Cumarine in wässriger Lösung mit den genannten Quecksilberreagentien, die wasserunlöslichen in alkoholischer Lösung. In keinem Falle und bei keiner Konzentration trat hierbei eine Fällung auf, so dass also diese Bildung der schwerlöslichen Mercurisubstitutionsverbindungen für die aufgespaltenen Cumarine charakteristisch ist.

Bei der in dieser Tabelle jeweilen aufgeführten stärksten Verdünnung ist nicht die äusserste Empfindlichkeitsgrenze erreicht, indem auch noch verdünntere Lösungen nach viertel- oder halbstündigem Stehen noch einen Niederschlag oder eine Trübung bildeten. Sie stellen jedoch eine Grenze dar, bei der die Trübung fast augenblicklich eintritt, eine Grenze, die sehr zweckmässig ist und daher nicht unterschritten werden sollte.

Die beschriebenen Empfindlichkeitsprüfungen wurden zur Kontrolle mehrmals durchgeführt. Die Resultate blieben sich stets gleich. Es wurde auch nicht unterlassen, entsprechende Blindversuche ohne Cumarin anzustellen, um nicht durch die Fällung eines basischen Quecksilbersalzes getäuscht zu werden, was jedoch bei vorangehender sorgfältiger Neutralisation nicht zu erwarten ist. Die Fällungen beider Quecksilberverbindungen sind löslich in Lauge und können aus dieser Lösung mit verdünnter Salzsäure wieder als weisse Fällung abgeschieden werden. Dabei entsteht folgende Chlor-Quecksilberverbindung:



Diese Überführung in eine solche Chlor-Quecksilberverbindung kann zur weiteren Identifizierung dienen. Hierbei ist allerdings darauf zu achten, dass kein Überschuss des ursprünglichen Quecksilberreagens vorhanden ist, indem sonst beim Hinzufügen der Lauge eine voluminöse, orange-rote Fällung einer basischen Quecksilberverbindung entsteht, die die Feststellung verhindert, ob die Cumarin-Quecksilberverbindung sich in der Lauge löst oder nicht.

Die Tabelle auf Seite 38 zeigt, dass bei allen Testcumarinen noch in beträchtlichen Verdünnungen Fällungen sowohl mit Quecksilberacetat wie mit Quecksilberacetamid entstehen. Die Empfindlichkeit der beiden Reagentien ist bei den einzelnen Cumarinen ungefähr dieselbe, mit der Einschränkung, dass das Quecksilber-acetamid vielfach dort noch Fällungen gibt, wo mit Quecksilber-acetat nur eine Trübung entsteht. Zur Präzisierung sei beigefügt, dass von einer Fällung dann gesprochen wird, wenn ein rasches Absetzen eines Niederschlages erfolgte, von einer Trübung dagegen, wenn die Lösung ohne Niederschlagsbildung einige Zeit gleichmässig getrübt erschien. Die Empfindlichkeitsgrenzen liegen bei den verschiedenen Testcumarinen verschieden hoch. Am wenigsten empfindlich sind die Reaktionen beim Imperatorin, am Empfindlichsten beim Umbelliferon. Bei sämtlichen treten indessen diese Fällungen bzw. Trübungen noch in derart schwachen Verdünnungen auf, dass man ganz allgemein diese Reaktionen als sehr empfindlich einschätzen darf. Die Fällungen waren durchwegs gelb gefärbt mit Variationen zwischen blassgelb und einem kräftigen zitronengelb. Die Trübungen erschienen gelblichweiss.

Empfindlichkeitstabelle der Testcumarine:

Quecksilberacetamid-R.	Quecksilberacetat-R.
Cumarin: 0,0008 g: Fällung blassgelb 0,0004 g: Fällung 0,0002 g: Fällung 0,0001 g: Trübung 0,00005 g: Trübung	*Cumarin:* 0,0008 g: Fällung blassgelb 0,0004 g: Trübung 0,0002 g: Trübung 0,0001 g: Trübung allmählich
Umbelliferon: 0,0005 g: Fällung gelb 0,0001 g: Fällung 0,00005 g: Fällung 0,00001 g: Trübung	*Umbelliferon:* 0,0005 g: Fällung gelb 0,0001 g: Fällung 0,00005 g: Trübung 0,00001 g: Trübung schwach
Aesculetin: 0,0002 g: Fällung gelb 0,0001 g: Fällung 0,00005 g: Trübung	*Aesculetin:* 0,0002 g: Trübung 0,0001 g: Trübung 0,00005 g: Trübung schwach
Ostruthin: 0,0005 g: Fällung gelb 0,00025 g: Fällung 0,0001 g: Fällung 0,00005 g: Trübung	*Ostruthin:* 0,0005 g: Fällung gelb 0,00025 g: Trübung 0,0001 g: Trübung 0,00005 g: Trübung schwach
Bergapten: 0,0002 g: Fällung gelb 0,0001 g: Fällung 0,00005 g: Trübung	*Bergapten:* 0,0002 g: Trübung 0,0001 g: Trübung 0,00005 g: Trübung schwach
Imperatorin: 0,001 g: Fällung gelb 0,0005 g: Fällung gelb 0,00025 g: Fällung	*Imperatorin:* 0,001 g: Fällung gelb 0,0005 g: Trübung 0,00025 g: Trübung schwach
Peucedanin: 0,00025 g: Fällung gelb 0,0001 g: Trübung 0,00005 g: Trübung schwach	*Peucedanin:* 0,00025 g: Trübung 0,0001 g: Trübung 0,00005 g: Trübung allmählich

Von Interesse ist, dass die Furocumarine *Bergapten, Imperatorin* und *Peucedanin* diese Quecksilberverbindungen in gleicher Weise bilden wie die übrigen Testcumarine. Auf Seite 19 ist dargestellt, dass die Substitutionen der Quecksilbergruppen zumeist sowohl in ortho- wie in para-Stellung zur phenolischen Hydroxylgruppe eintreten. Da bei den Furocumarinen die para-Stellung durch Eintritt des Furanringes besetzt ist, scheidet diese hier aus. *Naik* und *Patel* haben an synthetischen Cumarinen gezeigt, dass auch Monomercuri-Verbindungen entstehen. Wir haben nicht nachgeprüft, ob dies bei den Furocumarinen der Fall ist. Möglich wäre ja auch, ausser beim *Peucedanin*, eine Substitution im Furanring. Wenn beim *Bergapten* und beim *Imperatorin* Bi-mercuri-Verbindungen entstehen, so muss mindestens die eine Quecksilbergruppe im Furankern eingetreten sein.

Die vorstehend geschilderten Untersuchungen über den Nachweis der Cumarine mit Quecksilberacetat bzw. Quecksilberacetamid zeigen, dass diese beiden Reagentien mit sämtlichen geprüften, aufgespaltenen Testcumarinen, und nur mit diesen, noch in starker Verdünnung Fällungen geben. Da nach den Untersuchungen von *Naik* und *Patel* an 20 verschiedenen synthetischen Cumarinen diese Reaktionen stets positiv ausfallen, sind sie als sehr gut verwertbare Nachweisreaktionen für Cumarine zu bewerten. Hierbei ist dem Quecksilberacetamid gegenüber dem Quecksilberacetat insofern der Vorzug zu geben, als damit die Reaktionen noch etwas empfindlicher sind.

Natriumsulfit und Ferrichlorid.

Eine kurze theoretische Einführung findet sich auf Seite 20 dieser Arbeit.

Die praktische Durchführung der Reaktionen.

Apparatur:

Die Apparatur, welche das Erhitzen von kleinen Substanzmengen ohne Flüssigkeitsverlust erlaubte, bestand aus einem Rundkölbchen von 15 mm Durchmesser. Der Hals des Kölbchens war 8 cm lang und seine innere Weite betrug 10 mm. Dieses Kölbchen erhielt noch einen Aufsatz in Form eines 30 cm langen Glasrohres, über welches ein kleiner Kühler als Mantel geschoben wurde. Als Heizvorrichtung diente ein Mikrobrenner mit einem Stückchen Asbest als Heizplatte.

Darstellung der Sulfitverbindung.

Das Rundkölbchen wurde jeweils mit ungefähr 2 mg eines Testcumarins, der 3- bis 5fachen Menge analysenreinem, kristallisiertem Natriumsulfit Merck ($Na_2SO_3 \cdot 7\ H_2O$) und 0,5 ccm Wasser beschickt. Der Natrium-

sulfitüberschuss bzw. die Erhöhung der Alkalität erleichtert die Sulfitaddition. So lässt sich nach *Simonis* (45) die Sulfitverbindung des *Cumarins* leichter darstellen nach Vorbehandlung mit Lauge. Dies wurde hier nicht berücksichtigt. Es soll vorweggenommen werden, dass später beim praktischen Nachweis keine vollständige Sulfitanlagerung angestrebt wurde. Was sich nicht umsetzte, wurde nach dem Ansäuern abfiltriert. Es genügte deshalb ein Erhitzen des zu untersuchenden Materials bzw. Sublimates von mehreren Minuten, während hier der Kölbcheninhalt eine halbe Stunde lang erhitzt wurde, weil absichtlich eine vollständige Umsetzung erreicht werden wollte. Zur Prüfung auf vollständige Sulfitanlagerung wurde jeweils eine Probe der Lösung herausgenommen und mit verdünnter Salzsäure angesäuert. Bildet sich dabei keine Trübung bzw. Ausfällung eines Cumarins, so kann die Sulfitanlagerung als beendet betrachtet werden. War dies der Fall, so wurde der Kölbcheninhalt mit Ferrichlorid versetzt.

Die Ferrichloridreaktion. Vor dem Hinzufügen von $FeCl_3$ wurde die mit 0,5 ccm Wasser verdünnte Lösung der Cumarinsulfitverbindung nach dem Erkalten mit verdünnter Essigsäure sorgfältig neutralisiert. Eine Färbung durch Ferrichlorid konnte nicht beobachtet werden.

Die Annahme, dass das Vorhandensein von überschüssigem Natriumsulfit die Reaktion mit Ferrichlorid hemmen könnte, wurde durch folgenden Versuch bestätigt:

Nach den oben gemachten Angaben wurde mit 0,5 g *Cumarin* die entsprechende Sulfitadditionsverbindung des Cumarins dargestellt, diese aus einer Alkohol-Wasserlösung umkristallisiert und sorgfältig mit eisgekühltem Wasser ausgewaschen. Die Lösung im Wasser ergab mit Ferrichlorid eine blau-violette Färbung, die nicht schon beim ersten Tropfen des Reagens auftrat, sondern erst beim weiteren Zusatz von Ferrichlorid sichtbar wurde.

Die Entfernung des überschüssigen Sulfits aus der zu prüfenden Lösung ist unbedingt notwendig. Dies wird durch kräftiges Erhitzen der Lösung, nach dem Hinzufügen einiger Tropfen 10%iger Salzsäure, erreicht. Dabei ist zu sagen, dass die Sulfitverbindungen der Cumarine sehr beständig sind. Sie werden auch dann nicht zersetzt, wenn das Erhitzen der Lösung mit Salzsäure bis zur Trockene fortgesetzt wird. Es wurde jeweils etwas länger als nur bis zum Verschwinden des Schwefeldioxydgeruches erwärmt, dann das verdunstete Wasser ergänzt und hierauf festes Natriumbikarbonat bis zur nur mehr ganz schwach sauren Reaktion der Lösung beigefügt. Beim Hinzufügen von n-Ferrichlorid entstand die erwartete Färbung. Zur besseren Beobachtung der Farbreaktion wurde eine Blindprobe mit Wasser als Vergleichslösung mit der gleichen Anzahl Tropfen des Reagens versetzt und die Färbungen miteinander verglichen. Mit den Testcumarinen entstanden in dieser Ausführung der Reaktion mit Ferrichlorid folgende Färbungen:

Cumarin	blau-violett	Bergapten	grün
Umbelliferon	grün	Imperatorin	grün
Aesculetin	grün	Peucedanin	bläulich-grün
Ostruthin	bläulich-grün		

Die Menge der mit Ferrichlorid nachgewiesenen Cumarine betrugt 0,001 bis 0,002 g.

Die Empfindlichkeit der Ferrichloridreaktion. Zur Empfindlichkeitsprüfung diente die oben angeführte, aus einer Alkohol-Wasserlösung umkristallisierte Cumarinsulfitverbindung, indem eine Standardlösung von 0,1 g dieser Sulfitverbindung in 10 ccm Wasser gelöst und im Verhältnis 1 : 10 weiter verdünnt wurde. Bei einer Verdünnung, die einer Cumarinsulfitmenge von 0,00025 g entsprach, war die Färbung mit Ferrichlorid noch deutlich sichtbar.

Die Abhängigkeit der Färbung von der Anzahl und Stellung der phenolischen Hydroxylgruppen. Es ist früher schon (Seite 20) darauf hingewiesen worden, dass der Nachweis der Cumarine durch die Färbung mit Ferrichlorid, die mit der durch Natriumsulfit freigelegten phenolischen Hydroxylgruppe auftritt, für jene Cumarine nicht angewendet werden kann, welche in ihrem Molekül schon vorher freie phenolische Hydroxyle enthalten, vorausgesetzt, dass sie wasserlöslich sind. Um nun zu versuchen, ob die Reaktion nicht vielleicht doch auch hier Verwendung finden könnte, indem nach Freilegung der lactonisierten Hydroxylgruppe mit Ferrichlorid eine wesentlich andere Färbung auftreten würde als ursprünglich, wurde die Sulfitaufspaltung auch an solchen Oxy-cumarinen nachgeprüft. Zur Kontrolle benützte man *Umbelliferon* und *Aesculetin.* Beide färben sich ursprünglich in wässriger Lösung mit Ferrichlorid grün. Nach der Sulfitaufspaltung in oben genannter Weise tritt aber mit Ferrichlorid wieder eine Grünfärbung in derselben Nuance auf, so dass die gehegte Erwartung nicht erfüllt wurde.

Wie aus der Zusammenstellung der Färbungen, die bei der Sulfit-Ferrichlorid-Reaktion der Testcumarine auftreten, hervorgeht, sind diese Färbungen nicht gleichartig. Es schien daher interessant, zu prüfen, welchen Einfluss die Substitution mit Hydroxylgruppen in verschiedenen Stellungen auf diese Färbungen hat. Aus der Literatur ist zu entnehmen, dass sich das 5-Oxy-cumarin mit Ferrichlorid blaugrün, das 8-Oxy-cumarin tiefblau-violett färbt. Das 7-Oxy-cumarin *(Umbelliferon)* färbt sich, wie erwähnt, grün, ebenso das 6,7-Oxy-cumarin *(Aesculetin).*

Darstellung des 6-Oxy-cumarins:

Zur Darstellung dieses 6-Oxy-cumarins verwendete man 0,5 g *Cumarin*. Diese wurden in 15 ccm 5%iger Kalilauge warm gelöst. Zur abgekühlten Lösung gab man 0,2 g Ferrosulfat und löste darin noch ungefähr 2,0 g Kaliumpersulfat in kleinen Portionen unter Umschütteln auf. Die Flüssigkeit, welche ungefähr 24 Stunden lang geschüttelt werden musste, wurde angesäuert, wobei das nicht umgesetzte *Cumarin* ausfiel und der Lösung mit Äther entzogen werden konnte. Die Lösung hielt man 15 Minuten lang im Sieden; dabei hydrolisierte sich das in Äther unlösliche Sulfonat. Nach dem Erkalten der rotbraun gefärbten Lösung wurde ausgeäthert, der Äther abdestilliert, der gelbliche Rückstand in ziemlich viel, sehr schwach salzsaurem Wasser warm gelöst und unter Zusatz von Tierkohle entfärbt. Hierauf filtrierte man und dampfte das Filtrat auf dem Wasserbad etwas ein. Ohne eine Kristallisation abzuwarten, wurde die Ferrichloridreaktion durchgeführt. Es entstand eine grüne Färbung. Eine Wiederholung des Versuches mit der doppelten Menge *Cumarin* führte zum gleichen Resultat.

Diese Angaben zur Darstellung von 6-Oxy-cumarin wurden einer Publikation von *Bargellini* und *Monti* (46) entnommen.

Nachstehend sei eine Übersicht über die Färbungen dieser verschiedenen Oxy-cumarine mit Ferrichlorid gegeben:

5-Oxy-cumarin : blau-grün

6-Oxy-cumarin : grün

7-Oxy-cumarin : grün (Umbelliferon)

6,7-Oxy-cumarin : grün (Aesculetin)

8-Oxy-cumarin : blau-violett

Das Charakteristische für jene Cumarine, die keine freie phenolische Hydroxylgruppe besitzen oder die auch bei Gegenwart einer solchen nicht wasserlöslich sind, gegenüber der sich von vorneherein mit Ferrichlorid färbenden Pflanzenstoffen, liegt darin, dass man die lactonisierte Hydroxylgruppe des α-Pyronringes öffnen und dann erst mit Ferrichlorid nachweisen kann. Wenn also eine aus einer Pflanze isolierte Substanz erst dann eine positive Ferrichloridreaktion in wässriger Lösung gibt, wenn sie auf oben angegebene Weise mit Natriumsulfit behandelt worden ist, so handelt es sich voraussichtlich um ein Cumarin. Selbstverständlich ist die Reaktion nicht anwendbar für jene Cumarine, die Oxycumarine sind und infolge ihrer Wasserlöslichkeit von vorneherein eine Ferrichlorid-Reaktion geben. Es heisst dies, dass die Sulfit-Ferrichlorid-Reaktion nicht eine durchwegs charakteristische Nachweisreaktion für Cumarine darstellt. Abgesehen aber

von diesen genannten Ausnahmen, muss sie als eine sehr zweckmässige und recht empfindliche Reaktion auf Cumarine eingeschätzt werden.

Hydroxylaminspaltung.

Die theoretischen Grundlagen des Reaktionsverlaufes finden sich auf Seite 20. Es wurde zuerst das Reagens, die Hydroxylaminlösung I, durch Lösen von 0,7 g Hydroxylaminchlorhydrat in 40 ccm warmem Methylalkohol und Hinzufügen einer Lösung von 2,3 g Natrium in 25 ccm Methylalkohol, dargestellt. Die Lösung wurde mit Eis gekühlt und das abgeschiedene Kochsalz abgenutscht.

In 7 ccm des Reagens I wurden 0,5 g *Cumarin* durch Schütteln aufgelöst. Nach zwölfstündigem Stehenlassen im Eisschrank hatte sich ein weisser Niederschlag gebildet. Diese weisse Substanz hatte die Eigenschaften des von *Posner* (38) beschriebenen Cumarin-hydroxamoximhydrates. Letzteres geht beim Erwärmen mit Aethylalkohol in die β-Aminohydrocumarsäure über. Diese β-Aminohydrocumarsäure hat uns besonders interessiert. Sie wurde auf direktem Wege mit dem Reagens II erhalten. Dieses Reagens II bestand aus einer Lösung von 2,0 g Hydroxylaminchlorhydrat in 2,5 ccm heissem Wasser unter Zusatz einer Lösung von 0,7 g Natrium in 30 ccm Aethylalkohol. Zur Darstellung der β-Aminohydrocumarsäure diente im weitern die auf Seite 39 beschriebene Apparatur. Die Untersuchung wurde in 3 Kölbchen zugleich durchgeführt.

In das Kölbchen Nr. I gab man 0,1 g *Cumarin* plus 0,3 ccm des Reagens II; in das Kölbchen Nr. II 0,1 g *Umbelliferon* und 0,4 ccm des Reagens II und in das Kölbchen Nr. III 0,1 g *Imperatorin* und 0,4 ccm des Reagens II. Dann wurde 3 Stunden lang gekocht. Im Kölbchen Nr. I *(Cumarin)* bildete sich schon nach einer Stunde ein Niederschlag, nicht aber in den Kölbchen Nr. II und III *(Aesculetin* und *Imperatorin)*. Der Inhalt des Kölbchens Nr. I wurde nach Angaben *Posners* durch Auflösen des weissen Niederschlages in heissem Wasser und Hinzufügen der dreifachen Menge Alkohol umkristallisiert. Dabei entstanden schöne, farblose Nadeln, die in ihrem Verhalten gegenüber Lösungsmitteln mit den Angaben *Posners*, im Bezug auf die β-Aminohydrocumarsäure, übereinstimmten. In den Kölbchen II und III konnte nur unverändertes *Umbelliferon* und *Imperatorin* identifiziert werden.

Beim Wiederholen des Versuches mit je 0,1 g *Aesculetin, Peucedanin* und *Bergapten* wurde auch nach sechsstündigem Erhitzen das gleiche negative Resultat wie beim *Umbelliferon* und *Bergapten* festgestellt. Substituenten am Molekül verhindern also die Bildung der entsprechenden Aminohydrosäuren. Die Hoffnung, welche auf diese Reaktion gesetzt wurde, hat sich nicht erfüllt. Der Umstand, dass nur das *Cumarin* allein eine Aminohydrocumarsäure bildet, war ausschlaggebend genug, die Reaktionen mit Hydroxylamin nicht weiter zu berücksichtigen.

Borsche (39) wollte mit der Cumarinazoverbindung beweisen, dass die Cumarinsäure ein freies phenolisches Hydroxyl besitzt. Den Autor interessierte weniger der Farbstoffcharakter der Verbindung, als die Stellung im Benzolring, an welcher die Substitution erfolgt.

Uns interessierte in allererster Linie der Farbstoffcharakter, die Möglichkeit, diese Reaktion auch an den Cumarinderivaten durchführen zu können, und die Empfindlichkeit der Reaktion.

Borsche verwendete eine Kaliumkarbonatlösung zur Aufspaltung des *Cumarins*. Er arbeitete in schwach alkalischer Lösung. Weil Soda die wenigsten Cumarine aufzuspalten vermag, so war es gegeben, die Verwendungsmöglichkeit einer starken Base, wie 10%ige Natronlauge, zu prüfen.

Die Diazoreagentien:

Das Diazoreagens von *Borsche* konnte ebenfalls nicht übernommen werden. Die Herstellung von Phenyldiazoniumchlorid ist in Anbetracht der leichten Zersetzlichkeit des Reagens zu umständlich. Die Wahl fiel deshalb auf folgende haltbare Diazoreagentien, die ad hoc bereitet werden können:

A. Diazobenzolsulfosäure in halbprozentiger, wässriger Lösung.

B. Diazoreagens *Ehrlich* (Ph.H.V.) bestehend aus Lösung I und II.

I. Eine Lösung von 0,5% in Natriumnitrit in Wasser.

II. Eine Lösung von 0,5 g Sulfanilsäure in 95,0 g Wasser plus 5,0 g konzentrierte (25%ige) Salzsäure.

C. Ein variiertes Diazoreagens *Ehrlich*, wobei nur die Sulfanilsäure durch Anilinsulfat ersetzt wurde, bei gleichbleibender Konzentration.

Die Durchführung der Reaktion:

1. Mit Reagens A: (Diazobenzolsulfosäure).

Die alkalischen Cumarinatlösungen wurden mit 1 bis 2 Tropfen der halbprozentigen Diazobenzolsulfosäurelösung versetzt und sorgfältig mit 10%iger Natronlauge oder Ammoniak unterschichtet. Dann beobachtete man die auftretende Färbung an der Berührungszone beider Flüssigkeiten.

2. Mit Reagens B: *(Ehrlich)*.

Die Lösungen I und II des Reagens wurden je zu gleichen Teilen gemischt und wenige Tropfen der alkalischen Cumarinatlösung hinzugefügt.

3. Mit Reagens C: (Variiertes Diazoreagens *Ehrlich*).

Auch hier mischte man die Lösungen I und II des Reagens zu gleichen Teilen und fügte wenige Tropfen der alkalischen Cumarinatlösung hinzu.

Im Verlaufe der Untersuchungen zeigte es sich, dass bei der Unterschichtung der zu prüfenden alkalischen Cumarinlösungen mit dem Reagens

die auftretende Färbung besser beobachtet werden konnte. Diese Prüfungsweise wurde beim praktischen Cumarinnachweis ständig eingehalten. Als Reagens diente dabei das Diazoreagens *Ehrlich*, welches infolge seiner Farblosigkeit den andern vorgezogen wurde.

Die Reaktionen führten wir noch an 0,1%igen alkalischen Lösungen der Sulfitverbindungen (Seite 39) durch, wobei sehr darauf geachtet wurde, dass keine schweflige Säure mehr vorhanden war.

Ebenso wurden 0,1%ige Lösungen der Cumarate in Kalilauge auf ihr Verhalten gegenüber dem Diazoreagens geprüft. Die Cumarate wurden über die Sulfitverbindungen gewonnen, indem letztere, ohne stärker verdünnt zu werden, in der dort beschriebenen Apparatur (Seite 39) mit etwas fester Kalilauge noch ungefähr 1 Stunde lang weiter erhitzt wurden. Die Resultate der Prüfung sind in den Tabellen auf Seite 45, 46 ersichtlich.

Diese Tabellen zeigen uns, dass sämtliche Cumarinate, alle Cumarate und alle Sulfitverbindungen mit jedem Diazoreagens Farbreaktionen geben. Die Cumarinate, Cumarate und Sulfitverbindungen zeigen mit dem gleichen Reagens gleiche Färbungen. Auch die 3 verschiedenen Reagentien geben mit den gleichen Testcumarinen gleiche Färbungen, die z. B. beim *Cumarin* durchwegs orange, beim *Umbelliferon* immer weinrot sind. Bei den phenolischen Cumarinen ist mit steigender Zahl der Hydroxyle eine Vertiefung der Färbung zu beobachten.

Beim Ansäuern der Azoverbindungen gehen die Cumarinate in die entsprechenden Azolactone über. Dabei konnten folgende Farbänderungen beobachtet werden:

Die Färbungen der Azolactone.

	Alkalisalze der Oxysäure	Lactone
Cumarin	orange	gelb
Umbelliferon	weinrot	orange-gelb
Aesculetin	violett	bräunlich-gelb
Ostruthin	weinrot	rostbraun
Bergapten	orange	bräunlich-gelb
Imperatorin	orange	orange
Peucedanin	orange-rot	bräunlich-gelb

Die Empfindlichkeit der Reaktionen wurde hier nicht quantitativ nachgeprüft, indem sich zeigte, dass die Färbungen noch in sehr grossen Verdünnungen auftreten und daher die Reaktion ohne Zweifel gut verwendbar

Die Färbungen der Cumarinate mit den 3 Diazoreagentien.

Cumarinate:	Reagens A	Reagens B	Reagens C
Cumarin	orange	orange	orange
Umbelliferon	weinrot	weinrot	weinrot
Aesculetin	violett	violett	violett
Ostruthin	violett	weinrot	weinrot
Bergapten	orange	orange	orange
Imperatorin	orange	orange	orange
Peucedanin	orange-rot	orange-rot	orange-rot

Die Färbungen der Cumarine als Sulfitverbindungen mit Diazoreagens A und B.

Cumarine als Sulfit-verbg.	Reagens A	Reagens B
Cumarin	orange	orange
Umbelliferon	weinrot	weinrot
Aesculetin	rot-braun	rot-braun
Ostruthin	violett	violett
Bergapten	orange	orange
Imperatorin	orange	orange
Peucedanin	orange-rot	orange-rot

Die Färbungen der Cumarate mit Diazoreagens B.

Cumarate:	Reagens B
Cumarin	orange
Umbelliferon	weinrot
Aesculetin	violett
Ostruthin	violett
Bergapten	orange-rot
Imperatorin	orange-rot
Peucedanin	weinrot

ist. Es kann gesagt werden, dass die Empfindlichkeit dieser Reaktionen noch grösser ist als die der Reaktionen mit Quecksilberverbindungen (Seite 35).

Diese hohe Empfindlichkeit der Azoreaktionen und ihre leichte Durchführbarkeit stempeln sie zu einer sehr geeigneten Nachweisreaktion für Cumarine. Es muss jedoch gesagt werden, dass die Azoverbindungen nicht spezifische Reaktionen sind. Zahlreiche Phenole geben mit Diazoreagentien ebenfalls Färbungen. Deshalb ist diese Reaktion für sich allein zu wenig beweisend. Sie kann jedoch im Verbande mit dem Quecksilbereagens und der Sulfit-Ferrichlorid-Reaktion zum Nachweis der Cumarine gute Dienste leisten, weshalb ihre Aufnahme in die Reihe der allgemeinen Cumarinreaktionen ihre Berechtigung hat. Es soll noch hervorgehoben werden, dass auch hier (vgl. Seite 31) der Farbton unwesentlich ist. Die Hauptsache ist, dass eine Färbung auftritt.

III. Versuch zum Nachweis der Furocumarine.

Wie in der auf Seite 9 gegebenen Übersicht über die natürlichen Cumarine erwähnt worden ist, und wie auch aus der Tabelle A zu ersehen ist, spielt unter den Cumarinen eine besondere Gruppe eine bedeutsame Rolle. Es sind dies die Furocumarine. Bei dieser Bedeutung und Vertretung der Furocumarine erscheint es wünschenswert, im Rahmen des Cumarinnachweises wenn möglich auch einen besonderen Nachweis für Furocumarine erbringen zu können. Ein in dieser Richtung unternommener Versuch mag trotz seines negativen Ausfalles geschildert werden. *Reichstein* (47) hat dargelegt, dass gewisse Furan-carbonsäuren (Furan-2-carbonsäure, 5-Methyl-furan-2-carbonsäure, 2,-4,-Dimethyl-furan-3-carbonsäure) wie *Furan* selbst grüne Fichtenspanreaktion zeigen und zugleich eine Rotfärbung mit dem *Ehrlich*schen p-Dimethylamino-benzaldehyd-Reagens geben.

Der Abbau eines Furocumarins zur Furan-2,3-dicarbonsäure erfolgte nach Angaben von *Späth* und *Simon* (48). Als Ausgangssubstanz diente *Imperatorin*. Es wurden zwei entsprechende Versuche angestellt, indem beim ersten Versuch 0.1 g, beim zweiten 0,4 g *Imperatorin* verarbeitet wurden:

0,1 g *Imperatorin* wurden in 15 ccm 10%iger wässriger Kalilauge warm gelöst, abgekühlt, mit 10 ccm Wasserstoffsuperoxyd (8 Gew.%) versetzt, 24 Stunden stehen gelassen, hierauf 30 Minuten zur Zerstörung des überschüssigen Wasserstoffsuperoxydes erwärmt, angesäuert, mit Natriumchlorid gesättigt und mit Äther extrahiert.

Späth hat das Extrakt im Hochvakuum fraktioniert destilliert und dabei eine sehr geringe Ausbeute von Furan-dicarbonsäure erhalten. Eine Hochvakuumfraktionierung kam in unserem Falle nicht in Frage, weil dieselbe für den praktischen Nachweis viel zu kompliziert wäre und ohnehin wegfallen müsste. Das Extrakt wurde deshalb im Vakuum sublimiert. Das resultierende.

unreine Sublimat enthielt noch unverändertes *Imperatorin*. Dass das *Imperatorin*, wenn auch nur in sehr beschränktem Masse, zur Furan-dicarbonsäure abgebaut worden ist, wollten wir mit Hilfe der Fichtenspan- sowie der Ehrlichschen Reaktion nachweisen. Zu diesem Zweck wurden das Rohsublimat und der im Sublimationsgefäss verbliebene Rückstand, sowie ein nicht der Sublimation unterworfener Anteil des Extraktes nach *Reichstein* geprüft.

Die Fichtenspan-Reaktion:

Ein weisser, dünner Tannenholzspan wurde mit der konzentrierten alkoholischen Lösung des Rohsublimates, des im Sublimationsgefäss verbliebenen Rückstandes und des Extraktes getränkt und hierauf mit konzentrierter Salzsäure befeuchtet. Nach *Reichstein* sollte eine grüne Färbung auftreten, entweder sofort oder erst nach 5 bis 10 Minuten langer Einwirkung. Die Proben verliefen negativ.

Die Ehrlich'sche Reaktion:

Ungefähr 50 mg p-Dimethylaminobenzaldehyd wurden mit 1 ccm Alkohol übergossen, leicht umgeschüttelt ohne alles zu lösen und dann mit einem, in weiteren Versuchen mit mehreren Tropfen des alkoholischen Extraktes (vgl. oben) versetzt. Beim Hinzufügen von einigen Tropfen konzentrierter Salzsäure sollte eine rote Färbung auftreten. Auch hier verliefen die Reaktionen negativ.

Wahrscheinlich ist vom *Imperatorin* nur ein so kleiner Teil zerlegt worden, dass die Empfindlichkeitsgrenze der Reaktionen überschritten war. Möglicherweise gibt die Furan-dicarbonsäure weder die Fichtenspan- noch die Ehrlich'sche Reaktion.

3. Analysengang für die Abtrennung der Cumarine.

Überblicken wir die vorstehend geschilderten, an den Testcumarinen gemachten Erfahrungen über die Eignung der verschiedenen Cumarinreaktionen zum Nachweis natürlich vorkommender Cumarine, so ist zunächst einmal festzustellen, dass eine einzige der geprüften Nachweismethoden als für die Cumarine charakteristisch eingeschätzt werden kann: es ist die Quecksilberacetat- und Quecksilber-Acetamid-Reaktion. Sie ist deshalb für die α-Pyronderivate, d. h. die Cumarine spezifisch, weil sie erst dann mit Cumarin positiv wird, wenn diese zuvor durch Aufspaltung des Ringes in die entsprechenden cumarinsauren Salze übergeführt werden.

Da indessen der Nachweis mit einer einzigen Reaktion, besonders wenn es sich um einen solchen in pflanzlichem Material handelt, unbefriedigend ist, so wird man von vorneherein weitere Nachweisreaktionen herbeiziehen müssen, um sich ein abschliessendes Bild machen zu können. Prüfen wir an

Hand der an den Testcumarinen durchgeführten Untersuchungen, welche weiteren, zusätzlichen Reaktionen hierbei in Frage kommen können, so können wir die nachfolgenden als besonders geeignet in Betracht ziehen:

1. Fluoreszenz
2. Jodadsorption
3. Sulfit-Ferrichlorid-Reaktion
4. Diazo-Reaktion.

Wie bei der Besprechung dieser einzelnen Reaktionen festgestellt worden ist, ist jede einzelne keine zuverlässige Nachweisreaktion für Cumarine. Die Fluoreszenz-Reaktion kann deshalb nicht dafür angesehen werden, weil die Fluoreszenz nicht in jedem Lösungsmittel eintritt und weil auch andere fluoreszierende Pflanzenbestandteile Cumarine vortäuschen könnten. Die Jodadsorptionsverbindungen der Cumarine sind deshalb nicht eindeutig, weil auch γ-Pyrone solche geben und gerade Derivate von solchen im Pflanzenreich häufig anzutreffen sind. Die Sulfit-Ferrichlorid-Reaktion ist nur für solche Cumarine typisch, die nicht phenolischer Natur sind. Bei den Diazoreaktionen trifft dasselbe zu.

Werden aber zum Nachweis der Cumarine alle diese genannten Reaktionen zusammen mit der Quecksilberacetamid-Reaktion ausgeführt und sind sämtliche diese Reaktionen, abgesehen von der Fluoreszenz-Reaktion, positiv, so scheint nach den bei den Testcumarinen gemachten Erfahrungen der Nachweis für die Anwesenheit eines Cumarins erbracht zu sein. Betreffend Fluoreszenz-Reaktionen ist zu sagen, dass die Betrachtung im Ultraviolettlicht gute Resultate gibt und dass ein negativer Ausfall in einem bestimmten Lösungsmittel kein Beweis für die Abwesenheit eines Cumarins darstellt, sondern der Anlass dazu sein muss, dieselbe Prüfung in weiteren Lösungsmitteln zu kontrollieren.

Wenn oben gesagt wurde, dass der Nachweis der Cumarine mit Hilfe dieser verschiedenen Reaktionen erbracht erscheint, so ist diese vorsichtige Formulierung absichtlich gewählt worden, weil ja immerhin die Möglichkeit besteht, dass auch noch andere häufig vorkommende Pflanzenbestandteile ähnliche Reaktionen geben. Um dies zu prüfen, haben wir einige entsprechende Kontrollversuche mit Vertretern jener Gruppe von Pflanzenstoffen durchgeführt, die in erster Linie als die Reaktionen vortäuschende in Frage kommen, nämlich mit Gerbstoffen.

Die Prüfung der Cumarinereaktionen an Gerbstoffen.

Als Testsubstanzen verwendete man *Tannin* und ein kristallisiertes *Katechin* aus *Semen Colae*. Dass diese mit Ferrichlorid Färbungen geben und die Ferrichlorid-Reaktion für Cumarine nur dann verwendbar ist, wenn Gerb-

stoffe abwesend sind, ist von vornherein einleuchtend. Wesentlich ist das Verhalten genannter Gerbstoffe bei der Quecksilberacetamid-Reaktion.

Wird ein Cumarin mit *Tannin* oder *Katechin* unter Wasserzusatz erwärmt, so löst sich der Gerbstoff, nicht aber das Lacton, wenn es sich nicht um ein wasserlösliches Cumarin handelt. Beim Hinzufügen von einem bis mehreren Tropfen des Quecksilberacetamid-Reagens entsteht sofort eine voluminöse, orange-rote Fällung einer Gerbstoff-Quecksilberverbindung. Wird nun das Gemisch mit Äther ausgeschüttelt, der letztere sorgfältig abgetrennt und filtriert, so hinterbleibt nach dem Verdunsten ein Rückstand von Cumarin. Das Cumarin ist nicht ausgefällt worden und kann der Mischung mit Äther entzogen werden. Wird der Cumarinrückstand sublimiert und das Sublimat mit Wasser warm ausgelaugt, so entsteht beim hinzufügen von Quecksilberacetamid-Reagens zum Filtrat keine Fällung einer Gerbstoff-Quecksilberverbindung mehr. Derart können *wasserunlösliche* Cumarine von Gerbstoffen getrennt und mit dem Quecksilberacetamid- oder -acetat-Reagens nachgewiesen werden. *Wasserlösliche* Cumarine sind nicht durchwegs leicht ätherlöslich. Deshalb können solche Cumarine nicht durch Ausschütteln von der Gerbstoff-Quecksilberverbindung abgetrennt werden. Hierbei besteht aber die Möglichkeit, die Cumarine durch Filtration von der ausgefällten Gerbstoffverbindung abzutrennen. Das Filtrat ist hierauf noch auf dem Wasserbad einzudampfen, der Rückstand zu sublimieren und am Sublimat, in gleicher Weise wie oben, die Quecksilber-acetamid-Reaktion durchzuführen.

Neben wasserlöslichen Gerbstoffen können aber auch im pflanzlichen Material wasserunlösliche oder deren Umwandlungsprodukte zufolge ihrer Phenolnatur die Reaktion stören, d. h. indem sie zum Beispiel in alkoholischer Lösung eine Quecksilberfällung geben. Auch hier lässt sich gegebenenfalls das Cumarin daneben nachweisen, indem Cumarine in weingeistiger Lösung mit Quecksilberacetamid keine Fällung geben. Quecksilberacetat dagegen, vergleiche Seite 35, ist in diesen Fällen nicht verwendbar, weil es durch Alkohol ausgefällt wird.

Diese Kontrollprüfungen genügen, um zu zeigen, dass zum Nachweis von Cumarinen im Pflanzenmaterial möglichst eine Abtrennung von Begleitstoffen wie Gerbstoffen nötig ist, da diese Cumarinreaktionen vortäuschen könnten.

Die Abtrennung der Cumarine von Gerbstoffen.

Als naheliegendste Abtrennungsmethode der Cumarine von den Gerbstoffen wurde die Sublimation herbeigezogen. Man unterwarf reines *Tannin*, *Katechin*, die Mischung beider Gerbstoffe, trockenes Extrakt aus *Cortex Quercus* und *Rhizoma Tormentillae* der Vakuumsublimation in dem auf Seite 52 geschilderten Apparat bei einer Maximaltemperatur von 180°.

In keinem Falle wurde hierbei ein Sublimat erhalten. Mischte man nun diesen genannten Gerbstoffen bzw. Extrakten Cumarin bei und sublimierte in gleicher Weise, so erhielt man glatt ein Cumarinsublimat, das sich durch Resublimation leicht reinigen liess.

Führte man die Sublimation mit genannten Gerbstoffmaterialien bei 210° durch, so erhielt man mit Ausnahme des *Tannins* wieder keine Sublimate. Das *Tannin* allein lieferte hierbei ein die Phenolreaktionen positiv gebendes Sublimat, das aus Pyrogallol bestanden haben dürfte. Damit ist gezeigt, dass es mit Hilfe der Vakuumsublimation leicht gelingt, die Cumarine von Gerbstoffen abzutrennen. Da andererseits auf Seite 50 dargelegt worden ist, dass eine Isolierung der Cumarine aus dem Pflanzenmaterial wegen der möglichen störenden Einflüsse anderer Substanzen sowie eine Abtrennung dieser letzteren notwendig ist, konnte nun die Aufgabe in Angriff genommen werden, für die Isolierung und den Nachweis der Cumarine aus Pflanzen einen Weg zu suchen.

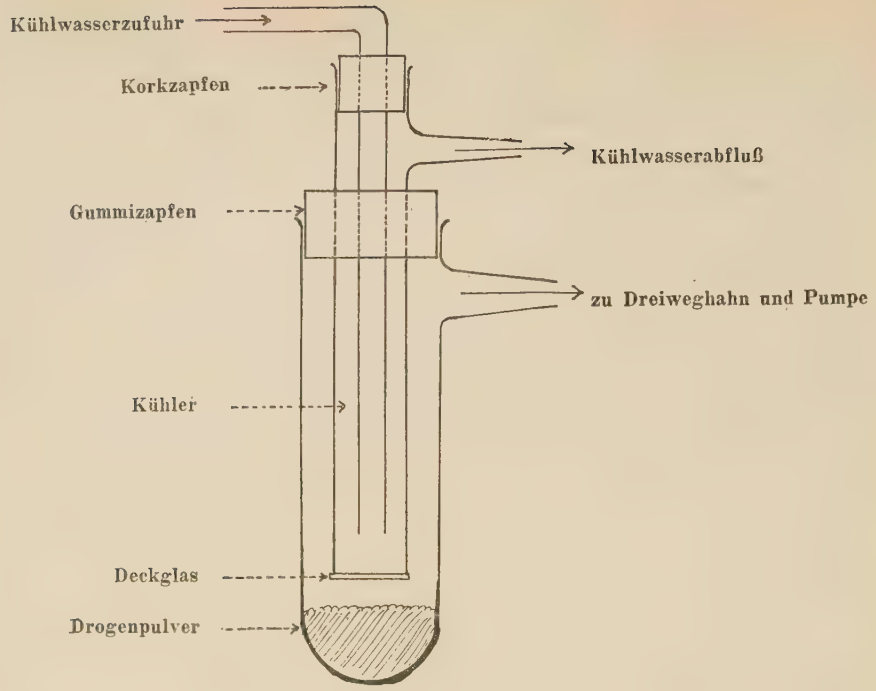
Die Isolierung der Cumarine zwecks Nachweis aus Pflanzenmaterial.

Die guten Erfahrungen, die man mit der Vakuumsublimation beim Abtrennen der Cumarine von den Gerbstoffen gemacht hatte, legten es nahe, dieselbe Methode auch für die Isolierung der Cumarine aus der Pflanze zu verwenden.

Zur Durchführung der Sublimation wurde in Anlehnung an den Mikrosublimationsapparat von *Klein* (49) eine einfache Apparatur konstruiert, mit der unter Ausnützung des Vakuums der Wasserstrahlpumpe Sublimate erzielt wurden, die direkt auf Cumarine geprüft werden konnten.

Die Sublimationsapparatur:

Auf Seite 52 ist die ganze Apparatur abgebildet. Sie besteht aus 2 Saugröhrchen, die ineinander geschoben werden. Das äussere Saugröhrchen dient in seinem untersten Teil zur Aufnahme des Drogenpulvers. Es ist 12,5 cm lang und 3,5 cm weit. Das innere Saugröhrchen, mit ebenem, glattgeschliffenem Boden, hat die Funktion eines Kühlers. Seine Dimensionen sind: Länge 13,5 cm, innere Weite 2 cm. Zur gegenseitigen Abdichtung beider Saugröhrchen dient ein weitgelochter Gummizapfen, der über den Kühler geschoben wird und knapp unterhalb des seitlichen Ansatzrohres des Kühlers zu liegen kommt. In den Kühler selbst wird ein Glasrohr bis dicht über die plangeschliffene Bodenfläche eingeführt. Es ermöglicht die Einleitung des Kühlwassers, das durch das seitliche Ansatzrohr des Saugröhrchens abgeleitet wird. An das Ansatzstück des äusseren Saugröhrchens wird der Druckschlauch der Wasserstrahlpumpe befestigt.



Sublimationsapparatur.

Die Durchführung der Sublimation:

Die zur Sublimation bestimmte Droge wird in einem Mörser fein zerstampft und durch Sieb III geschlagen. Da die Erfahrung gemacht wurde, dass das Pulver stark ölhaltiger Drogen das Sublimat verschmiert, müssen Drogenpulver vor der Sublimation rasch mit Petroläther warm ausgelaugt werden, wenn sie, wie zum Beispiel die Pulver der Umbelliferenfrüchte, diese Eigenschaft, stark ölhaltig zu sein, haben. Die natürlichen Cumarine sind schwer oder unlöslich in Petroläther, weshalb beim raschen Auslaugen kein Cumarinverlust zu befürchten ist. Ungefähr 3,0 g des so präparierten Drogenpulvers werden in den trockenen Sublimationsapparat eingefüllt und der Kühler, an dessen Bodenfläche mit einer Spur Glyzerin ein rundes Deckgläschen von ungefähr 20 mm Durchmesser geklebt wird, soweit eingeführt, dass sein Boden 7 bis 10 mm über der Droge zu liegen kommt. Die ganze Apparatur wird bis auf die Höhe des Drogenpulvers in ein Ölbad getaucht. Es ist vorteilhaft, ein Glasgefäss und farbloses Paraffinöl als Badeflüssigkeit zu verwenden, um den Sublimationsprozess jederzeit beobachten zu können.

Ein in das Ölbad eintauchender Thermometer dient zur Temperaturkontrolle. Geheizt wird mit der Flamme des Bunsenbrenners. Wir verwendeten noch einen zweiten, etwas kleineren, jedoch genau gleich konstruierten Sublimationsapparat, der zur Resublimation der Rohsublimate gute Dienste leistete. Als Heizquelle diente dabei ein Mikrobrenner. Praktisch ist diese zweite Apparatur vollkommen überflüssig, weil auch mit dem grösseren Apparat genau so gut resublimiert werden kann.

Zu Beginn der Sublimation darf unter Ausnützung des Vakuums der Wasserstrahlpumpe nur auf 110° bis 120° aufgeheizt werden. Dabei kondensiert sich das noch in der Droge enthaltene Wasser am Kühler bzw. am Deckgläschen. Nach ungefähr zehnminütiger Einwirkung soll das Vakuum mit Hilfe eines Dreiweghahnes vorsichtig unterbrochen werden. Dann muss der Kühler sorgfältig herausgehoben und das Deckgläschen durch ein neues ersetzt werden. Diesen Prozess wiederholt man noch ein- bis zweimal, wobei das an diesen Deckgläschen haftende Kondensat vernachlässigt werden kann. Die Deckgläschen haften mit Hilfe von Glyzerin sehr gut, so dass sie bei einigermassen vorsichtigem Unterbrechen des Vakuums nicht abfallen. Dann wird ebenfalls unter Ausnützung des Vakuums der Wasserstrahlpumpe auf 165° bis 175° geheizt und die Temperatur 15 bis 30 Minuten auf diesem Temperaturintervall belassen. Bildet sich dabei am Deckgläschen ein kräftiges Sublimat, so soll das Deckgläschen, unter Einhaltung der erwähnten Sublimationsdauer nochmals, eventuell sogar ein drittes Mal gewechselt werden. Wenn die Ausbeute an Rohsublimaten aus 3,0 g Drogenpulver sehr gering ist, so ist es vorteilhaft, weitere 3,0 g Drogenpulver zu sublimieren. Das Vakuum der Wasserstrahlpumpe schwankte zwischen 6 bis 10 mm Hg.

Die an den Deckgläschen haftenden Rohsublimate werden zertrümmert, in den Sublimationsapparat gebracht und zweimal, wenn nötig dreimal sublimiert.

Es ist zweckmässig, stark verunreinigte Rohsublimate vor der Resublimation zu reinigen. Hierbei kann man eine Reinigung unter Berücksichtigung des Lactoncharakters der ätherlöslichen Cumarine in Analogie zur sogenannten Lactontrennung (Seite 24) erzielen. Bei diesem Reinigungsprozess werden die verschiedenen Deckgläschen mit den daran haftenden Rohsublimaten in ein Kölbchen gebracht, darin in ungefähr 5 ccm 10%iger Kalilauge heiss gelöst, filtriert, abgekühlt und in einem kleinen Scheidetrichter mit Äther ausgeschüttelt (Abtrennung des Unverseifbaren). Dann wird angesäuert und der Lösung die Cumarine mit Äther als Lactone entzogen. Der Äther ist meist noch gelb gefärbt. Zur Abtrennung der in der Ätherlösung eventuell noch vorhandenen sauren Anteile, wird dieselbe zweimal mit ungefähr 5 ccm 0,5%iger Kalilauge rasch ausgeschüttelt, wobei die Gelbfärbung verschwindet. Bei dieser rasch durchgeführten Kaltbehandlung mit 0,5%iger Kalilauge ist eine Aufspaltung des Lactonringes nicht zu befürchten.

Hierauf muss der Äther zur Hälfte abgedampft, dann der verbleibende Ätheranteil zur Vermeidung von Substanzverlusten direkt im Sublimationsgefäss verjagt und der Rückstand sublimiert werden. Es ist zweckmässig die Ätherlösung vor dem Eindampfen noch mit entwässerten Natriumsulfat zu trocknen.

Die Prüfung der Sublimate.

Bei der wenn nötig mehrmals wiederholten Resublimation der Rohsublimate wurden die zu prüfenden Substanzen in einer Reinheit erhalten, die es gestattete, die Sublimate direkt zum Cumarinnachweis zu verwenden. Es hat sich als zweckmässig erwiesen, beim Resublimieren die Deckgläschen in ziemlich rascher Folge zu wechseln, weshalb dann auch zur Prüfung jeweils 10 und mehr Sublimate vorlagen.

a) Die Vorprüfung.

1. Fluoreszenz-Reaktion. (Vgl. Seite 29.) Ein festes Sublimat wird unter der Analysenquarzlampe direkt beobachtet, dann in etwas Alkohol aufgenommen und von neuem auf die Fluoreszenzerscheinung geprüft. Die gleiche Untersuchung wird zum dritten Mal wiederholt, nachdem der Alkohol abgedampft und der Rückstand in 10% Kalilauge gelöst worden ist.

Beim Auftreten der Fluoreszenz an der festen und an der gelösten Substanz oder nur in der einen oder andern Phase bzw. in dem einen oder andern Lösungsmittel, besteht die Möglichkeit, dass ein Cumarin vorliegt.

2. Jodadsorptionsreaktion. (Vgl. Seite 30). Das mit einem Sublimat behaftete Deckgläschen wird unter dem Mikroskop (mit Hilfe eines feinen Glasstäbchens) mit einer Spur 2n-Jodjodkalilösung betupft, so dass nicht das ganze Sublimat davon bedeckt ist. Dann wird, am besten an den Rändern des sich verbreitenden Jodjodkalitröpfchens, das Auftreten einer Färbung beobachtet. Diese äussert sich in dem unter dem Mikroskop sichtbaren, mehrfarbig schillernden Aufleuchten der mit Jod in Berührung gelangten Cumarinkristalle.

Fallen beide Vorproben vollkommen negativ aus, so besteht wenig Wahrscheinlichkeit, dass das Sublimat ein Cumarin enthält. Der positive Ausfall ist kein Beweis für das Vorliegen solcher Körper, weshalb anschliessend dessen Identifizierung durch nachfolgende Hauptreaktionen zu bestätigen ist.

b) Die Hauptreaktionen.

1. Quecksilberacetamid-Reaktion. (Vgl. Seite 35). Der grösste Teil der noch zur Verfügung stehenden Deckgläschen wird auf einem Uhrglas zerdrückt. Die zertrümmerten Deckgläschen bringt man in ein kleines Reagensglas und fügt ungefähr 1 ccm Wasser hinzu. Nun wird erwärmt, dann abgekühlt und durch ein möglichst kleines Filter filtriert.

Das Filtrat A muss auf wasserlösliche Phenole, auf wasserlösliche Oxy-cumarine und auf wasserlösliche Cumarine untersucht werden. Der Filterrückstand B ist auf wasserunlösliche Cumarine zu untersuchen.

Prüfung des Filtrates A:

Das gegebenenfalls mit sehr stark verdünnter Lauge genau neutralisierte Filtrat A, welches mit Wasser auf ein Volumen von ungefähr 2 ccm zu ergänzen ist, wird in 3 gleiche Teile geteilt.

Wasserlösliche Phenole: Das erste Drittel des Filtrates A wird direkt mit 1 bis 2 Tropfen des Quecksilberacetamid-Reagens versetzt. Entsteht keine Fällung oder starke Trübung, so sind keine wasserlöslichen, nicht cumarinartigen Phenole, die den nachträglichen Nachweis der Cumarine stören, vorhanden, ausser solchen in Form von wasserlöslichen Oxy-cumarinen. Im weitern können auch noch wasserlösliche Cumarine, so das Cumarin selbst, zugegen sein, weil phenolische Oxy-cumarine so wenig wie alle übrigen Cumarine, ohne vorangegangene Ringaufspaltung mit dem Quecksilberreagens keine Fällungen geben.

Wasserlösliche Oxy-cumarine: Der zweite Drittel des Filtrates A wird mit Ferrichlorid versetzt. Entsteht dabei eine Färbung, dann liegt möglicherweise ein wasserlösliches phenolisches Cumarin vor, sofern die Prüfung des ersten Drittels des Filtrates A mit Quecksilberacetamid negativ ausgefallen ist. Ist jedoch die Prüfung des ersten Drittels des Filtrates A mit Quecksilberacetamid positiv gewesen, dann kann die Färbung mit Ferrichlorid auch durch wasserlösliche Phenole, ausser solchen in Form von Cumarinen, hervorgerufen worden sein.

Wasserlösliche Cumarine: Der letzte Drittel des Filtrates A dient zur Prüfung auf wasserlösliche Cumarine. Das Filtrat wird zur Aufspaltung des Lactonringes mit 2 bis 3 Tropfen 40%iger Kalilauge versetzt, einige Minuten am Mikrobrenner erhitzt, mit verdünnter Essigsäure nach dem Erkalten sehr sorgfältig neutralisiert und hierauf 1 Tropfen Quecksilberacetamid hinzugefügt. Entsteht eine Fällung oder Trübung, so darf auf das Vorhandensein eines wasserlöslichen Cumarins geschlossen werden, wenn im ersten Drittel des Filtrates A keine wasserlöslichen Phenole und im zweiten Drittel des Filtrates A keine wasserlöslichen Oxy-cumarine festgestellt worden sind.

Wasserunlösliche Phenole: Wasserunlösliche Phenole werden geprüft durch Lösen eines Sublimates in etwas Alkohol und Versetzen der Lösung mit einigen Tropfen Quecksilberacetamid. Fällt die Reaktion positiv aus, so handelt es sich um wasserunlösliche Phenole, weil wasserunlösliche Phenolcumarine wie schon erwähnt, gleich wie unlösliche, nicht phenolische Cumarine, ohne vorangehende Lactonringaufspaltung keine Fällungen mit dem Quecksilberacetamid-Reagens geben.

Prüfung des Rückstandes B.

Der noch mit den Scherben der Deckgläschen durchsetzte Rückstand wird halbiert und die beiden Hälften je in zwei kleine Reagensgläser gebracht.

In das eine der Reagensgläser gibt man 1 ccm 10%ige Kalilauge und erhitzt bis zur Lösung. Dann wird abgekühlt und mit verdünnter Essigsäure genau neutralisiert. Entsteht beim Hinzufügen von 1 Tropfen Quecksilberacetamid eine blassgelbe bis zitronengelbe Fällung oder Trübung, die auf Zusatz von Lauge wieder verschwindet, so darf auf die Anwesenheit eines Cumarins geschlossen werden.

2. Sulfit-Ferrichlorid-Reaktion. (Vgl. Seite 40). Die andere Hälfte des Rückstandes B, die sich im zweiten Reagensglas befindet, wird mit ungefähr 0,1 g festem Natriumsulfit und zirka 0,5 ccm Wasser versetzt. Dann wird mehrere Minuten lang direkt am Mikrobrenner erhitzt, nachfolgend 2 bis 3 Tropfen 25%ige Salzsäure hinzugefügt und bis zum Verschwinden des Schwefeldioxydgeruches weiter erwärmt. Nach erfolgter Abkühlung und Ergänzung des verdunsteten Wassers auf ungefähr 1 ccm wird filtriert, mit festem Natriumbikarbonat die Säure abgestumpft bis zur ganz schwach sauren Reaktion und hierauf Ferrichlorid hinzugeträufelt. Entsteht eine Färbung, so kann diese Reaktion als Bestätigung der Quecksilberacetamid-Reaktion aufgefasst werden.

3. Diazo-Reaktion. (Vgl. Seite 44). Die noch verbleibenden Sublimate (es genügt ein einziges) löst man in 1 ccm 10%iger Kalilauge, kühlt ab und unterschichtet mit dem Diazoreagens *Ehrlich*. Tritt dabei eine Färbung auf, so stammt diese von einem Cumarin, wenn die Prüfung auf fremde Phenole negativ verlaufen ist und die Reaktionen mit Quecksilberacetamid und Sulfit-Ferrichlorid ein positives Resultat ergeben haben.

Der Vollständigkeit halber findet sich der oben geschilderte Analysengang tabellarisch auf Seite 58 zusammengefasst.

4. Kontrolle der Eignung des Cumarinnachweises an cumarinhaltigen Drogen.

Die Möglichkeit, natürliche Cumarine durch Sublimation zu isolieren und mit den Cumarinreaktionen nachzuweisen wurde bei der Untersuchung einer Anzahl Drogen, die nach Literaturangaben (vgl. Tabelle A und B, Anhang) cumarinhaltig sind, bestätigt. Es gelangten die Pulver der Früchte von *Angelica Archangelica, Angelica silvestris, Heracleum Sphondylium, Peucedanum Ostruthium* und *Heracleum Mantegazianum* zur Untersuchung. Von jedem Pulver wurden 3,0 g mit Petroläther vorbehandelt und dann daraus Sublimate hergestellt, die nach dem auf Seite 54 geschilderten Analysengang

geprüft wurden. Die Resultate dieser Prüfung sind aus der Tabelle auf Seite 59 zu ersehen. Es kann daraus entnommen werden, dass sämtliche Sublimate alle durchgeführten Cumarinreaktionen positiv ergaben, und dass sich damit an Hand dieser Nachweisreaktionen das in der Literatur angegebene Vorkommen von Cumarinen in diesen Früchten bestätigen lässt.

5. Die Prüfung einiger Drogen auf Cumaringehalt.

Der auf Seite 54 geschilderte Analysengang zum Nachweis von Cumarinen in Pflanzen erfüllt nur dann seinen Zweck, wenn es mit seiner Hilfe gelingt, Cumarinderivate in Drogen aufzufinden, für die ein solches Vorkommen bisher nicht bekannt gewesen ist. Da nun die Wahrscheinlichkeit unbekannte Cumarindrogen zu finden in solchen Pflanzenfamilien am grössten ist, die zahlreiche cumarinhaltige Vertreter aufweisen, fiel die Wahl auf Umbelliferendrogen. Wir wählten hierzu sowohl offizinelle als auch nicht offizinelle Umbelliferenfrüchte, nämlich:

Früchte von *Pimpinella Anisum* als *Fructus Anisi* offizinell,

Früchte von *Petroselinum hortense* als *Fructus Petroselini* offizinell,

Früchte von *Carum Carvi* als *Fructus Carvi* offizinell,

Früchte von *Foeniculum capillaceum* als *Fructus Foeniculi* offizinell,

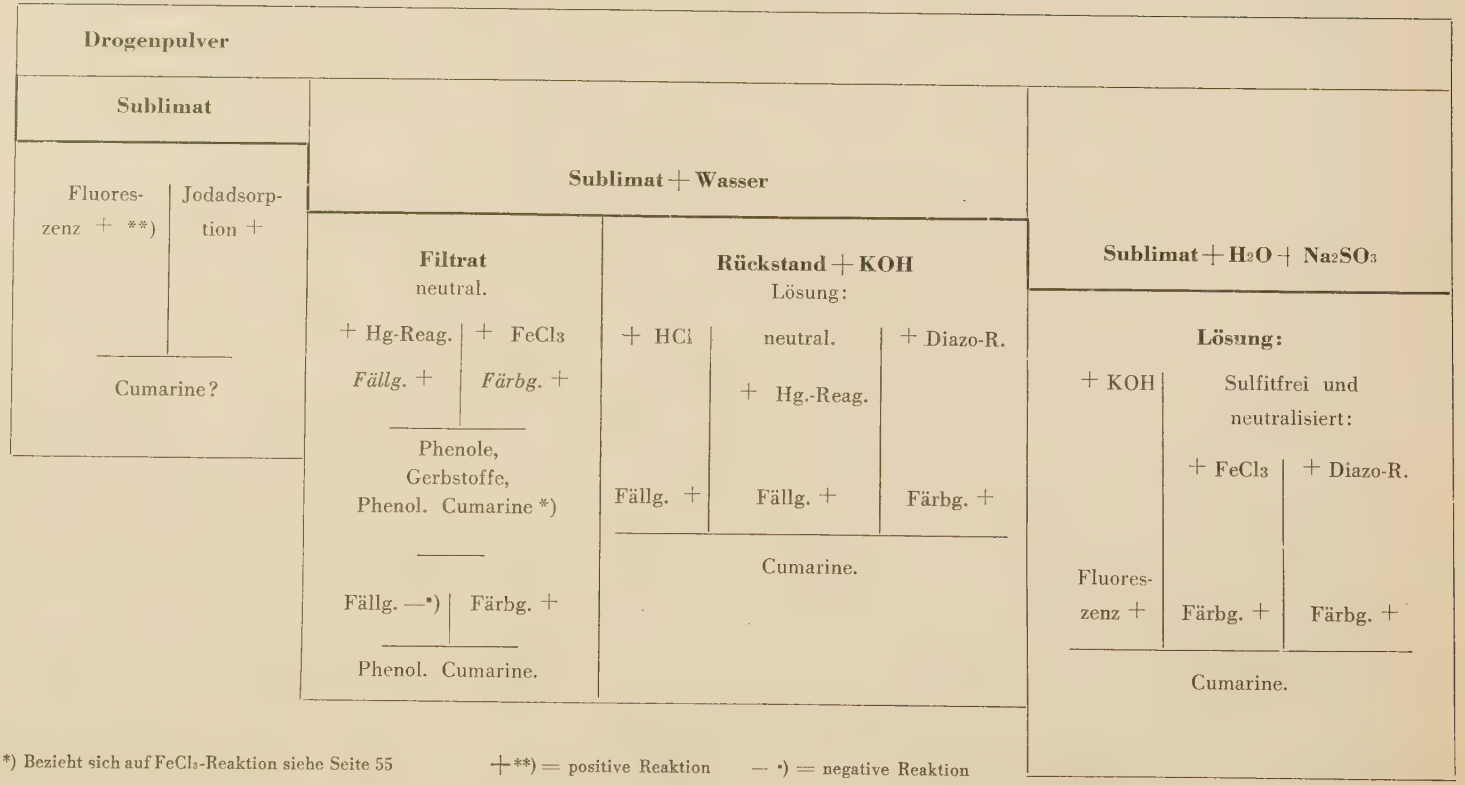
Früchte von *Laserpitium latifolium*, nicht offizinell,

Früchte und Wurzeln von *Pastinaca sativa*, nicht offizinell.

a) Die Untersuchung der offizinellen Umbelliferenfrüchte.

Je 3,0 g der gepulverten, offizinellen Umbelliferenfrüchte wurden mit wenig Petroläther rasch warm ausgezogen und sublimiert. Die bei der Sublimation dieser Drogenpulver verwendeten Deckgläschen waren bei *Pimpinella Anisum, Carum carvi* und *Foeniculum capillaceum*, beim Herausnehmen aus dem Sublimationsapparat mit einer dünnen, öligen und gelbbraun gefärbten Schicht bedeckt. Aus diesem Grunde wurden die Deckgläschen der einzelnen Früchte zertrümmert, mitsamt den daran haftenden öligen Sublimaten in den Sublimationsapparat zurückgebracht und nochmals sublimiert, jedoch ohne bessere Resultate zu erzielen. Nur *Fructus Petroselini* lieferte ein wenn auch sehr dünnes Rohsublimat, das resublimiert gerade zur Beobachtung der Fluoreszenz am festen und des in Kalilauge gelösten Sublimates, sowie zur Durchführung der Quecksilberacetamid- und der Diazo-Reaktion ausreichte. Diese Reaktionen fielen positiv aus.

Schematische Darstellung der Cumarin-Reaktionen.



*) Bezieht sich auf $FeCl_3$-Reaktion siehe Seite 55 + **) = positive Reaktion — •) = negative Reaktion

Die Reaktionen der Sublimate cumarinhaltiger Drogen.

Droge	Fluoreszenz des Sublimates			Reaktion auf Phenole von Nicht-cumarincharakter Wässriger Auszug des Sublimates		Hg-acetamid Reaktion (nach Ring-aufspaltung und Neutralisation)	Sulfit-Ferrichlorid Reaktion	Diazo-Reaktion	Jod-adsorp-tion
	fest	in KOH 10%	in Alkohol 90%	+ Hg-acet-amid	+ $FeCl_3$				
Angelica Archangelica Früchte	bläulich-grün	weisslich-grün	weisslich-grün	negativ	negativ	+ gelb	+ gelbl.-grün	+ rötl.-violett	+
Angelica silvestris Früchte	grün	weisslich-blau	weisslich-grün	negativ	negativ	+ gelb	+ gelbl.-grün	+ rötl.-violett	+
Heracleum Sphondylium Früchte	grün	bräunlich-grün	weisslich-blaugrün	negativ	negativ	+ gelb	+ gelbl.-grün	+ orange-rot	+
Peucedanum Ostruthium Früchte	grün	grün	weisslich-blau	negativ	negativ	+ gelb	+ grün	+ orange-rot	+
Heracleum Mantegazianum Früchte	grün	bräunlich-grün	weisslich-blaugrün	negativ	negativ	+ gelb	+ grün	+ orange	+

Das positive Ergebnis bei *Fructus Petroselini* hat uns veranlasst, grössere Mengen sämtlicher offizinellen Umbelliferenfrüchte aufzuarbeiten.

Es wurden je 90,0 g (Fassungsvermögen des Soxhlet) getrocknete und gemahlene (Sieb III) Umbelliferenfrüchte mit 250 ccm Äther, zwecks Herauslösen der Cumarine, im Soxhletapparat ungefähr 3 Stunden lang extrahiert und die Extrakte sublimiert. Die Sublimate wurden resublimiert und die wieder nur in öliger Form vorliegenden Resublimate von *Fructus Anisi*, *Fructus Carvi* und *Fructus Foeniculi* geprüft. Sämtliche Sublimate zeigen unter der Analysenquarzlampe grüne Fluoreszenz. Sämtliche geben aber nicht eine der übrigen Cumarinreaktionen, sodass sie also als cumarinfrei betrachtet werden müssen. Gerade dieser Befund zeigt wie wichtig es ist für den Nachweis von Cumarinen, nicht nur auf eine Reaktion, im vorliegenden Fall die Fluoreszenz, abzustellen. Aus dem Extrakt von *Fructus Petroselini* erhielt man wieder ein zur aufgewendeten Drogenmenge sehr spärliches Rohsublimat. Es reichte jedoch zur Durchführung sämtlicher Cumarinreaktionen, die alle positiv ausfielen und das Vorhandensein eines Cumarins in *Fructus Petroselini* bestätigten.

b) Die Untersuchung der Früchte von Laserpitium latifolium.

Külz (50) hat die Untersuchung von *Laserpitium latifolium* unternommen, um einesteils die bis dahin ziemlich lückenhafte Kenntnis des *Laserpitins*, des Bitterstoffes dieser Pflanze zu ergänzen, andernteils um zu ermitteln, ob die in der Wurzel gewisser Umbelliferen sich findenden Inhaltsstoffe *Peucedanin*, *Athamantin*, *Ostruthin* und *Laserpitin* als Verbindungen von einander nahestehenden Pflanzen, auch in chemischer Hinsicht eine gewisse Verwandtschaft erkennen lassen. *Külz* erkannte, dass beim Vergleich der Produkte, die bei der Einwirkung verschiedener Agentien auf *Laserpitin* erzielt werden, mit denen die unter entsprechenden Verhältnissen von *Peucedanin*, *Ostruthin* und *Athamantin* erhalten werden, nicht die geringste Übereinstimmung festzustellen war.

Vor *Külz* hatte sich einzig *Feldmann* (51) mit dem *Laserpitin*, einem Inhaltsstoff aus der weissen Enzianwurzel, beschäftigt. Die Resultate der beiden Autoren stimmen nur in bezug auf die chemischen Eigenschaften der fragwürdigen Substanz überein. Verschieden sind jedoch die Ansichten über die chemische Zusammensetzung des Pflanzenkörpers. Nach *Feldmann* hat *Laserpitin* die Formel C_{24} H_{36} O_7. *Külz* hingegen kam auf ein von demjenigen *Feldmanns* stark abweichendes Resultat, nämlich auf C_{15} H_{22} O_4.

Uns hat nicht das *Laserpitin* interessiert, sondern nur die Möglichkeit, ob nicht diese Pflanze, welche den besagten Bitterstoff enthält, als Umbellifere nicht auch noch natürliche Cumarine enthalten könnte.

Vorweggenommen werden muss, dass *Laserpitin* wie die natürlichen Cumarine sublimierbar ist, im Gegensatz zu letzteren jedoch in verdünnten Laugen unlöslich ist. Auf letztere Eigenschaft wurde bei der Abtrennung des *Laserpitins* nach erfolgter Isolierung, d. h. Sublimation, Bezug genommen.

Zur Untersuchung standen uns 30,0 g Laserpitiumfrüchte zur Verfügung. Diese wurden pulverisiert und davon 20,0 g in 5 Portionen der Vakuumsublimation unterworfen. Sämtliche Deckgläschen mit den daran haftenden Rohsublimaten brachte man in ein Kölbchen mit 10 ccm 10%iger Kalilauge und erhitzte ungefähr eine Viertelstunde auf dem Wasserbad. Nach dem Erkalten wurde sorgfältig vom ungelösten *Laserpitin* abfiltriert, das Filtrat mit Salzsäure angesäuert, um dabei den Lactonringschluss der möglicherweise im Filtrat vorliegenden cumarinsauren Kalisalze herbeizuführen. Nach dem Ansäuern schüttelte man mit Äther aus, dampfte letztern ab, sublimierte den Rückstand, und resublimierte das amorphe Sublimat des Rückstandes in gewohnter Weise. Die derart isolierte Substanz wurde nach dem auf Seite 54 beschriebenen Analysengang auf Cumarine untersucht.

Um möglicherweise vorhandene wasserlösliche, phenolische bzw. Äther unlösliche Cumarine zu erfassen, haben wir weitere 10,0 g gepulverte Droge sublimiert, das *Laserpitin* mit verdünnter Lauge abgetrennt, die alkalische Lösung angesäuert aber nicht ausgeäthert, sondern sorgfältig auf dem Wasserbad eingedampft und den Rückstand sublimiert.

Die Prüfung der Sublimate beider Isolierungsmethoden auf Cumarine verlief positiv:

Fluoreszenz:

Festes Sublimat: grün; alkoholische Lösung des Sublimates: weisslich-blau; Lösung des Sublimates in 10%iger Kalilauge: grün.

Prüfung auf fremde Phenole:

Wässriger Auszug des Sublimates + Quecksilberacetamid: negativ.
Wässriger Auszug des Sublimates + Ferrichlorid: negativ.

Dies lässt auf Abwesenheit fremder Phenole schliessen. (Vgl. Seite 55.)

Quecksilberacetamid-Reaktion: allmählich gelblich-weisse Fällung.

Sulfit-Ferrichlorid-Reaktion: gelblich-grüne Färbung.

Diazo-Reaktion: orange Färbung.

Jodadsorption: positiv.

c) Die Untersuchung der Früchte und Wurzeln von Pastinaca sativa.

Von *Pastinaca sativa (Peucedanum sativum)*, Umbelliferae, ist das Öl der Früchte genauer untersucht worden. Über die Untersuchung der Wurzeln

und die übrigen Bestandteile der Früchte orientieren wenige Publikationen *Wehmer* (52). Eine eingehendere Arbeit stammt von *van Urk* (53), der sich vor allem mit den Inhaltsstoffen der Wurzel beschäftigte. *Van Urk* stellte fest, dass die Wurzeln von *Pastinaca sativa* keine der in *Rhizoma Imperatoriae* und *Peucedani* enthaltenen Stoffe enthalten. In den Früchten fand *van Urk* Spuren eines nicht flüchtigen Alkaloids. Die Annahme von *Wittstein (54)*, dass die Früchte eine flüchtige Base enthalten, wurde von *van Urk* nicht bestätigt.

Wir haben 3,0 g gepulverte Pastinakfrüchte im Vakuumsublimationsapparat sublimiert und dabei schon nach sehr kurzer Zeit die Bildung eines reichlichen Sublimates beobachten können, das unter der Analysenquarzlampe auffallend stark grün fluoreszierte.

Dieser Befund veranlasste uns, 180,0 g gemahlene Pastinakfrüchte zu untersuchen. Das Drogenpulver wurde in 2 Portionen mit je 250,0 g Äther im Soxhletapparat jeweils 3 Stunden lang extrahiert, und das gewonnene Extrakt in gewohnter Weise wiederholt sublimiert. Die Sublimation erfolgte unter ziemlich raschem Wechsel der Deckgläschen, wobei nur die mit den relativ reinsten Sublimaten bedeckten Deckgläschen, nach deren Zertrümmerung, in den Sublimationsapparat zurückgebracht wurden zur Resublimation der Sublimate. Diese Prozedur wurde mit den an neuen Deckgläschen haftenden Resublimaten so oft wiederholt, bis dass kein Hellerwerden der noch ganz schwach gelblich gefärbten Substanz mehr zu beobachten war. Mit einem Teil dieser derart gereinigten, kristallinen Substanz erfolgte die Durchführung der Cumarinreaktionen.

Die totale Ausbeute an kristillasierter Substanz aus 180,0 g Pastinakfrüchten betrug ungefähr 0,1 g und in Prozenten ausgedrückt rund 0,05%.

Das Untersuchungsergebnis:

Die Substanz ist löslich in Alkohol, Äther und Chloroform. Sie löst sich nicht in Wasser, weder kalt noch heiss; jedoch mit gelber Farbe in 10%iger Kalilauge beim Erwärmen.

Die feste Substanz fluoresziert im UV-Licht auffallend stark grün. Ebenfalls grün fluoresziert die alkoholische und die alkalische Lösung.

Die Jodadsorption verläuft positiv.

Beim Versetzen der alkoholischen Lösung mit Quecksilberacctamid tritt keine Fällung auf: Fremde Phenolkörper sind keine vorhanden.

Die Quecksilberfällung tritt nach erfolgter Aufspaltung und Neutralisation beim Hinzufügen von 2 Tropfen des Quecksilberacetamid-Reagens sofort auf. Der Niederschlag ist löslich in Lauge. Beim Ansäuern der Laugenlösung entsteht wieder eine weisse Ausfällung.

Der positive Charakter der Sulfit-Ferrichlorid-Reaktion ist an der gelblich-grünen Färbung ersichtlich.

Die Diazo-Reaktion gibt eine orange-rote Färbung.

Die Substanz zeigt in allen ihren Reaktionen ein den Cumarinen entsprechendes Verhalten. Bei der Mikroschmelzpunktbestimmung ist es jedoch nicht möglich, einen einheitlichen und scharfen Schmelzpunkt zu erkennen, indem im Koflerschen Schmelzpunktbestimmungsapparat einzelne Kristalle schon bei 110°, andere jedoch erst bei 140° schmelzen.

Dieses Verhalten der Substanz bei der Bestimmung des Schmelzpunktes deutet darauf hin, dass ein Gemisch vorliegt. Ob es sich um ein Gemenge von Cumarinen oder um ein solches von einem Cumarin mit Nicht-cumarinen handelt, lässt sich ohne weitere Abtrennung nicht sagen. Es liegt nicht im Rahmen dieser Arbeit, eine derartige Trennung durchzuführen und zu versuchen, das Cumarin analysenrein zu erhalten. Massgebend war für uns, dass der Beweis für das Vorliegen eines Cumarins in den Früchten von *Pastinaca sativa* erbracht wurde.

In Analogie zur Untersuchung der Pastinakfrüchte wurde auch aus den Wurzeln ein Ätherauszug hergestellt, dessen Rückstand jedoch kein Sublimat lieferte. Ebenfalls erfolglos war die direkte Sublimation des Wurzelpulvers. Die Wurzel von *Pastinaca sativa* enthält demnach, im Gegensatz zu den Früchten der gleichen Pflanze, keine Cumarine.

6. Zusammenfassung.

1. Eine Anzahl bekannter Reaktionen des Cumarins — sie sind im allgemeinen Teil in einer kurzen theoretischen Betrachtung zusammengefasst — wurde an einigen Testcumarinen, welche Repräsentanten der auf Seite 9 aufgeführten fünf Cumaringruppen nach *Späth* darstellen, geprüft. Bei der Prüfung waren der positive Ausfall mit sämtlichen Testcumarinen, ein einfacher Reaktionsverlauf und eine möglichst hohe Empfindlichkeit der Reagentien ausschlaggebend für die Berücksichtigung der Reaktionen.

Diesen Anforderungen entsprachen fünf Reaktionen, nämlich:

die Fluoreszenz-Reaktion,

die Jodadsorptions-Reaktion,

die Quecksilberacetat- und Quecksilberacetamid-Reaktion,

die Sulfit-Ferrichlorid-Reaktion und

die Diazo-Reaktion.

2. Es wurde ein Analysengang ausgearbeitet, in welchem die fünf Reaktionen in der Reihenfolge ihrer Bedeutung als mehr oder weniger spezifische

Reaktionen Aufnahme fanden. Die Gestaltung des Analysenganges ermöglicht es auch, Phenolkörper von Nicht-cumarin-charakter, die als häufige Begleitstoffe von Pflanzeninhaltsstoffen vorhanden sein könnten, festzustellen.

3. Die Isolierung der Cumarine erfolgt direkt aus der Droge mit Hilfe einer einfachen Apparatur durch Sublimation, unter Ausnützung des Vakuums der Wasserstrahlpumpe. Die Ätherextraktion im Soxhletapparat findet zur Aufarbeitung grösserer Drogenmengen, Anwendung vor allem dort, wo neben dem Nachweis des Inhaltsstoffes, auch dessen möglichst quantitative Isolierung angestrebt wird.

4. Die Reinigung der isolierten Inhaltsstoffe erreichten wir durch ein- bis mehrmalige Sublimation im Vakuumsublimationsapparat.

5. Praktische Anwendung fanden Isolierungsmethode und Analysengang bei der Untersuchung offizineller und nicht offizineller Umbelliferendrogen. In den Früchten von *Petroselinum sativum* und *Laserpitium latifolium* konnte das Vorhandensein eines Cumarins nachgewiesen werden. Bei beiden Drogen gelang es jedoch nicht, den Lactonkörper in grösseren Mengen zu isolieren, trotz Verarbeitung von relativ grossen Drogenmengen. Die isolierten Pflanzeninhaltsstoffe beider Drogen reichten gerade zur Durchführung sämtlicher Nachweisreaktionen, wozu dank der Empfindlichkeit aller Reaktionen, nur sehr kleine Substanzmengen benötigt werden.

6. Bei der Untersuchung der Früchte von *Pastinaca sativa* gelang es, aus 180,0 g Droge 0,1 g eines Stoffes zu isolieren, der sämtliche Eigenschaften eines Cumarins aufweist.

Negativ verliefen die Untersuchungen mit den Früchten von *Pimpinella Anisum, Carum Carvi, Foeniculum capillaceum* und den Wurzeln von *Pastinaca sativa.*

Tabelle A.

Tabelle A. Zusammenstellung der in der Literatur angeführten natürlichen Cumarine

Smp.	Bruttoformel	Bezeichnung der Cumarine		Gewinnung aus	Autoren	Literatur
1. Cumarin und seine einfachen Abkömmlinge:						
67—68°	$C_9H_6O_2$	Cumarin		Dipteryx odorata, Legum. Samen	Vogel 1820 Strecker 1867 Perkin 1868 Lutzmann 1940	Gilberts Ann. d. Physik 64, 161 Strecker, Lehrb. org. Chem. 1867 Soc. 6, 53 B. 73, 638
	$C_{18}H_{16}O_5$	Melilotsäure-cumarin	Verb. v. Cumarin und Melilotsäure in molekularem Verhältnis	Melilotus offic. Legum. Kraut und Blüten	Fontana 1835 Zwenger 1863	Ann. 14, 324 Ann. 126, 257
240—241°	$C_{15}H_{18}O_8$	Melilotosid	Glucosido-o-cumarsäure	Melilotus altissima Legum. Melilotus arvensis	Charaux 1925 Shinoda 1934	C. 1926, I, 1821 C. 1934, II, 3388
2. Oxy- und Alkoxy-cumarine und deren Glycoside:						
61—63°	$C_{24}H_{30}O_3$	Umbelliprenin	Umbelliferon-Farnesyl-äther	Angelica Archangelica Umbellif. Früchte	Späth 1938	B. 71, 1667 C. 1939, I, 2608
118- 119°	$C_{10}H_8O_3$	Herniarin	7-Methoxy-cumarin	Herniaria hirsuta	Barth 1889	Mh. d. Chem. 10, 161
147°	$C_{11}H_{10}O_4$	Citropten ident. mit Limettin	5,7-Dimethoxy-cumarin	Citrus Limonum Risso, Rutac. Früchte	Brissenot 1829 Tilden 1890 Schmidt 1901	 Soc. 57, 223 (81, 508) Arch. Pharm. 242, 288
148—149°	$C_{11}H_{10}O_5$	Isofraxidin	6,8-Dimethoxy-cumarin	Fraxinus exelsior, Oleac. Rinde	Späth 1937 Späth 1938	B. 70, 1019, 1672 B. 71, 1831

Smp.	Bruttoformel	Bezeichnung der Cumarine		Gewinnung aus	Autoren	Literatur
172—173°	$C_{11}H_{10}O_5$	Fraxinol	5,7-Dimethoxyd-6-oxy-cumarin	Fraxinspaltung Fraxinus exelsior, Oleac. Rinde	Salm-Horstmar 1859 Späth 1937	Pogg. Ann. 107, 327 B. 70, 698
196—197°	$C_{11}H_{10}O_5$	Fraxidin	6,7-Dimethoxy-8-oxy-cumarin	Fraxinus exelsior, Rinde	Späth 1937 Späth 1938	B. 70, 1019, 1672 B. 71, 1831
196—197°	$C_{16}H_{18}O_{10}$	Fraxin	6-Methoxy-7,8-dioxy-8-glucosido-cumarin	Fraxinus exelsior, Rinde	Salm-Horstmar 1857 Wessely 1930	Pogg. Ann. 100, 607 B. 63, 1299
204—205°	$C_{15}H_{16}O_9$	Aesculin	6-Glucosido-aesculetin	Aesculus hippocastanum Hippocastanaceae	Minor 1833 Seka-Kallir 1931 Merz 1932	 B. 64, 622 Arch. Pharm. 228, 476
205°	$C_{10}H_8O_4$	Scopoletin	6-Methoxy-7-oxy-cumarin	Gelsemium sempervirens Loganiac. Scopolia japonica, Solanac.	Wormley 1870 Schmidt 1890	C. 1870, 678 Arch. Pharm. 228, 435
210°	$C_{15}H_{16}O_8$	Skimmin	Glucosid d. Umbelliferons	Skimmia japonica, Rutac. Holz und Blätter	Eijkmann 1884 Späth 1938	Beilstein III, 611 Rec. Trav. Chim. Pays-Bas 57, 535(1938) C. 1938, II, 1783
215—217°	$C_{16}H_{18}O_9$	Scopolin	Glucosido-Scopoletin	s. Scopoletin	Merz 1932	Arch. Pharm. 270, 476

Smp.	Bruttoformel	Bezeichnung der Cumarine		Gewinnung aus	Autoren	Literatur
216°	$C_{15}H_{16}O_9$	Cichoriin	7-Glucosido-Aesculetin	Cichorium Intybus Cichorium Intybus Compositae	Nietzki 1876 Merz 1932/3	 Arch. Pharm. 270, 467 271, 449
223—224°	$C_{15}H_{16}O_9$	Daphnin	7-Glucosido-Daphnetin	Daphne-Arten	Vauquelin 1812 Wessely 1929/30	 B. 63, 1299 B. 62, 115
228—229°	$C_{10}H_8O_5$	Fraxetin	6-Methoxy-7,8-dioxy-cumarin	s. Fraxin	Salm-Horstmar 1859 Wessely 1929 Späth 1938	Pogg. Ann. 107, 327 B. 62, 120 B. 63, 1299 B. 71, 1831
231—232°	$C_{10}H_6O_4$	Ayapin	6,7-Methylendioxy-cumarin	Eupatorium Ayapana bzw. triplinerve, Compositae, Blätter	Bose & Rox 1936	C. 1937, I, 1956
238°	$C_9H_6O_3$	Umbelliferon	7-Oxycumarin	Eupatorium triplinerve, Blätter	Späth 1937	B. 70, 702
				Daphne-Arten und Umbelliferen-Harze	Zwenger & Sommer 1860 Tiemann 1879 Tiemann 1880	Ann. Chem Pharm. CXV, 15 B. 12, 994 B. 13, 2370
256°	$C_9H_6O_4$	Daphnetin	7,8-Dioxy-cumarin	s. Daphnin	Pechmann 1884 Pechmann 1899	B. 17, 929 B. 32, 287
272°	$C_9H_6O_4$	Aesculetin	6,7-Dioxy-cumarin	Aesculus hippocastanum Hippocastanaceae	Rochleder 1853 Gattermann 1899	Ann. 87, 186 B. 15, 2072 B. 32, 288

Smp.	Bruttoformel	Bezeichnung der Cumarine		Gewinnung aus	Autoren	Literatur
3. Im Benzol- oder Pyronring alkylenierte oder alkylierte Oxy- oder Methoxy-cumarine:						
83—84°	$C_{15}H_{16}O_3$	Osthol	7-Methoxy-8-(γ,γ-dimethyl-allyl)-cumarin	Imperatoria Ostruthium Umbellif. Rhizom.	Herzog & Krohn 1909 Späth 1933 Späth 1934, 1938	Arch. Pharm. 247, 553 B. 66, 755 B. 67, 264 B. 71, 1662
98°	$C_{15}H_{16}O_4$	Aurapten		Citrus Aurant. subsp. amari, Flavedo	Böhme & Pietsch 1938 Böhme & Pietsch 1939	Arch. Pharm. 1938, 482 B. 72, 773, 780
107—128°	$C_{21}H_{30}O_4$	Ammoresinol	3-Farnesyl-4,7-dioxy-cumarin	Dorema Ammoniacum, Umbellif. Gummiharz	Casparis 1924 Späth 1936 Späth 1937	Schweiz. Apoth. Ztg. 62 (1924) B. 69, 1656 B. 70, 1255, 1679
119°	$C_{19}H_{22}O_3$	Ostruthin	6-Geranyl-7-oxycumarin	Imperatoria Ostruthium, Umbellif. Wurzel	Gorup & Besanez 1874 Späth 1934	B. 7, 564 B. 67, 859
124—125°	$C_{14}H_{14}O_3$	Osthenol	7-Oxy-8-(γ,γ-dimethyl-allyl)-cumarin	Angelica Archangelica Umbellif. Wurzel	Späth 1937 Späth 1938	B. 70, 1023 B. 71, 1662
132—132,5°	$C_{16}H_{20}O_6$	Toddalo-lacton		Toddalia aculeata, Rutac. Wurzel	Dey & Pillay 1933 Späth 1938 Späth 1939	Arch. Pharm. 271, 477 B. 71, 1825 B. 72, 53

Smp.	Bruttoformel	Bezeichnung der Cumarine		Gewinnung aus	Autoren	Literatur
4. a) Furo-cumarine; der Furanring ist nicht substituiert:						
59—61°	$C_{21}H_{22}O_4$	Bergamottin	Geranyläther des Bergaptols	Ol. Bergamottae calabrin.	Späth 1937	B. 70, 2273 C. 1938, I, 1588
58—60°	$C_{24}H_{30}O_7$	Athamantin		Athamanta Oreoselinum, Umbellif. Wurzel	Späth 1940	B. 73, 709, 1309
102 103°	$C_{16}H_{14}O_4$	Imperatorin ident. mit Marmelosin	γ-γ,Dimethylallyläther des Xanthotoxols	Imperatoria Ostruthium Umbellif. Rhizom	Osann 1831 Späth 1933 Späth 1935 Späth 1937	Arch. Pharm. 37, 346 B. 66, 1137 B. 68, 1123 B. 70, 248, 1021 C. 1939, I, 2608
106°	$C_{17}H_{16}O_6$	Byak-Angelicol		Angelica glabra Makino	Noguchi Kawanami 1939	B. 72, 483
109°	$C_{16}H_{14}O_4$	Iso-Imperatorin	γ,γ-Dimethylallyläther des Bergaptols	Imperatoria Ostruthium, Umbellif. Rhizom	Späth 1933 Späth 1935 Späth 1939	B. 66, 1146 B. 68, 1123 B. 72, 52
117—118°	$C_{17}H_{18}O_7 + H_2O$	Byak-angelicin		Angelica glabra Makino Umbellif. Wurzel	Noguchi & Kawanami 1938 1939	B. 71, 344, 1428 B. 72, 483
118—119°	$C_{13}H_{10}O_5$	Pimpinellin	5,6-Dimethoxy-angelicin	Pimpinella saxifraga, Umbellif. Wurzel	Buchheim 1872 Herzog 1908 Wessely 1931	Arch. Pharm. 246, 402 Mh. d. Chem. 59, 161

Smp.	Bruttoformel	Bezeichnung der Cumarine		Gewinnung aus	Autoren	Literatur
136—137°	$C_{21}H_{22}O_7$	Ostruthol	Angelicasäureester d. Oxypeucedaninhydrates	Imperatoria Ostruthium Umbellif. Rhizom	Herzog & Krohn 1909 Späth 1933	Arch. Pharm. 247, 553 B. 66, 1150
139—140°	$C_{11}H_6O_3$	Angelicin	Furo-2',3':7,8-cumarin	Angelica Archangelica Umbellif. Wurzel	Späth 1934 Späth 1935	B. 67, 853, 1212 B. 68, 940
142—143°	$C_{16}H_{14}O_5$	Oxypeucedanin		Peucedanum officin. Umbellif. Rhiz. Imperatoria Ostruthium, Umbellif. Rhizom	Erdmann 1839 Heut 1875 Späth 1933 Späth 1939	J. pr. Chem. 16, 42 A. 175, 78 B. 66, 914 B. 72, 52
145—146°	$C_{12}H_8O_4$	Xanthotoxin	8-Methoxy-psoralen	Fagara xanthoxyloides, Rutac. Fruchtschale	Thoms & Priess 1910 Späth 1936	B. Dtsch. Pharm. Ges. 21, 267 B. 69, 767 C. 1939, I, 2608
149—151°	$C_{13}H_{10}O_5$	Iso-pimpinellin	5,8-Dimethoxy-psoralen	Pimpinella saxifraga, Umbellif. Wurzel	Heut 1898	Arch. Pharm. 236, 162
161—163°	$C_{12}H_8O_4$	Sphondylin	ein Methoxy-cumarin Struktur?	Heracleum sphondylium, Umbellif. Rhizom	Späth 1936	Mh. d. Chem. 67, 344
171°	$C_{11}H_6O_3$	Psoralen ident. mit Ficusin	Furo-2',3':7,6-cumarin	Psoralea corylifolia, Legum. Samen	Manjunath & Venkata 1933 Späth 1936/37	C. 1933, II, 77 B. 69, 1087; 70, 73
189—191°	$C_{12}H_8O_4$	Sphondin	6-Methoxy-furo-cumarin	Heracleum Sphondylium, Umbellif. Rhizom	Späth 1936 Späth 1941	Mh. d. Chem. 67, 344 B. 74, 595

Smp.	Bruttoformel	Bezeichnung der Cumarine		Gewinnung aus	Autoren	Literatur
190°	$C_{12}H_8O_4$	Heraclin ident. mit Bergapten		Heracleum Sphondylium, Umbellif.	Gutzeit 1879	Wehmer: Pflanzenstoffe 1931, 899
				Heracleum Sphondylium, Umbellif.	Späth 1933	B. 67, 62
191–192,5°	$C_{12}H_8O_4$	Bergapten (siehe Heraclin)	5-Methoxy-psoralen	Citrus bergamia, Rutac. (Ol. Bergamottae calabrin.)	Kaltbrunner 1834	
					Thoms 1911	B. 44, 3325
				Fagara xanthoxyloides, Rutac.	Späth & Wessely 1937	B. 70, 243, 478 C. 1939, I, 2608
224°	$C_{12}H_8O_4$	Iso-bergapten	5-Methoxy-angelicin	Pimpinella saxifraga, Umbellif. Wurzel	Wessely 1932	Mh. d. Chem. 60, 141
				Heracleum Sphondylium, Umbellif. Rhizom	Späth 1936	Mh. d. Chemin 67, 344
					Späth 1937	B. 70, 1253
252—253°	$C_{11}H_6O_4$	Xanthotoxol	8-Oxy-psoralen	Angelica Archangelica, Umbellif. Früchte	Späth 1937	B. 70, 248 C. 1939, I, 2608
277—278°	$C_{11}H_6O_4$	Bergaptol	5-Oxy-psoralen	Ol. Bergamottae calabrin.	Späth 1933	B. 67, 59 B. 70, 1253
4. b) Furocumarine: der Furanring ist substituiert:						
109°	$C_{15}H_{14}O_4$	Peucedanin	Methyläther des Oreoselons	Peucedanum officin. Umbellif. Rhizom	Schlatter 1833	A. 5, 201
					Späth 1931	B. 64, 2203
					Späth 1933	B. 66, 749

Smp.	Bruttoformel	Bezeichnung der Cumarine		Gewinnung aus	Autoren	Literatur
115,5°	$C_{14}H_{14}O_4$	Alloxanthoxyletin isomer mit Xanthoxyletin		Xanthoxyllum americanum Rutac.	Robertson	C. 1938, I, 1588 J. chem. soc. London 1937, 1545
132—132.5°	$C_{14}H_{14}O_4$	Xanthoxyletin (Xanthoxylin N)		Xanthoxyllum fraxineum Rutac. Rinde	Gordin 1906 Dieterle 1937	J. americ. chem. soc. 28, 2, 1649 Arch. Pharm. 275, 45
177—178°	$C_{14}H_{12}O_4$	Oreoselon	Spaltprodukt des Peucedanins	Peucedanin durch Verseifung	Späth 1940 Bruchhausen 1941 Späth 1941	B. 73, 709 B. 74, 1584 B. 74, 1789
188—189°	$C_{14}H_{10}O_3$	Oroselon		Athamanta Oreoselinum, Umbellif. Wurzel	Schnedermann & Winkler 1844 Späth 1940	A. 51, 315 B. 73, 709 B. 74, 1584, 1789 B. 75, 146, 298
192°	$C_{14}H_{14}O_4$	Nodakenetin		Peucedanum decursivum, Umbellif. Wurzel	Arima 1927 Späth 1936	J. chem. soc. Japan 48, 88 B. 69, 2062 B. 75, 146, 298
218—219°	$C_{20}H_{21}O_9$	Nodakenin	Glucosido-Nodakenetin	s. Nodakenetin	Späth 1939	B. 72, 2089, 2092

Smp.	Bruttoformel	Bezeichnung der Cumarine		Gewinnung aus	Autoren	Literatur
5. Cumarine, die einen 2,2-Dimethyl-1,2-chromen Ring aufweisen:						
103—109°	$C_{15}H_{14}O_4$	Luvangetin		Luvunga scandens, Rutac. Frucht	Bose & Mookerjee 1939 Späth 1940 Späth 1941	B. 72, 1450 B. 73, 1361 B. 74, 193
119—120°	$C_{14}H_{12}O_3$	Seselin		Seseli indicum, Umbellif. Früchte Skimmia japonica, Rutac. Blätter	Bose & Guha 1936 Späth 1938 Späth 1939	C. 1937, II, 238 B. 71, 353 B. 72, 821, 963
128—129°	$C_{14}H_{12}O_3$	Xanthyletin		Xanthoxyllum americ. Rutac. Luvunga scandens, Rutac.	Bell & Robertson 1936 Späth 1939	J. chem. soc. London 1936, 1828 B. 72, 1450, 2093
6. Cumarine mit fraglicher Struktur:						
117°	$C_{14}H_{16}O_3$	Fraxinellon		Dictamus albus, Rutac. Wurzel	Thoms 1930	Arch. Pharm. 1930, 39

Tabelle B.

Tabelle B. Der Cumaringehalt verschiedener Drogen

Droge		Inhaltsstoff	Gehalt in %	Reinheit	Literatur
Daphne Mezereum	Rinde	Daphnin	0,08	rein	B. 63, 301, 1299
Cichorium Intybus	Blüten	Cichoriin	4,3—4,6	Rohglucosid	Arch. Pharm. 1932, 484
Eupatorium Ayapana	Blätter	Ayapanin Ayapin	0,4 0,27	gereinigt	B. 70, 703
Fraxinus exelsior	Rinde	Fraxinol Fraxinol Fraxidin und (Kristallgemisch) Isofraxidin daraus Fraxidin	0,12 0,046 0,03 0,006	roh rein roh rein	B. 70, 698 B. 70, 1020
Imperatoria Ostruthium	Rhizom	Oxypeucedanin Ostruthol Osthol Ostruthin	1,3 0,3 0,1 0,5	rein „ „ „	Arch. Pharm. 247, 553
Imperatoria Ostruthium	Rhizom	Oxypeucedanin Ostruthin Osthol	1,0 0,3 0,03	? ? ?	Ann. 495, 187
Peucedanum officin.	Rhiz. 2jähr. Rhiz. mehrj.	Peucedanin Oxypeucedanin Peucedanin Oxypeucedanin	2,0 0,3 2,5 0,5	rein „ rein „	Arch. Pharm. 247, 562
Angelica Archangelica	Wurzel	Osthenol	0,025	rein	B. 70, 1024
Angelica Archangelica	Wurzel	Angelicin Osthol	0,08 0,21	rein „	B. 67, 855
Angelica Archangelica	Früchte	Imperatorin Bergapten Umbelliprenin Xanthotoxin Xanthotoxol	0,5 0,1 0,04 0,02 0,02	rein „ „ „ „	Mh. d. Chem. 72, 179
Angelica Archangelica	Früchte	Umbelliprenin Bergapten Imperatorin	0,04 0,006 0,015	rein „ „	B. 71, 1667

Droge		Inhaltsstoff	Gehalt in %	Reinheit	Literatur
Angelica glabra Makino	Wurzel	Byak-Angelicol Byak-Angelicin Byak-Angelicin	0,2 0,5 0,2	rein roh rein	B. 71, 347
Citrus bergamia	Früchte	Bergaptol	0,11	rein	B. 67, 59
Citrus bergamia	Früchte	Bergamottin	0,45	rein	B. 70, 2273
Heracleum Sphondylium	Früchte	Heraclin	0,018	rein	B. 67, 62
Heracleum Sphondylium	Wurzel	Rohlacton-fraction Pimpinellin Iso-pimpinellin Iso-bergapten Sphondylin Sphondin	1,32 0,49 0,23 0,10 0,23 0,05	 rein „ „ „ „	Mh. d. Chem. 67, 344
Ficus carica	Blätter	Ficusin	2,35	rein	B. 72, 1577
Pimpinella saxifraga	Wurzel	Cumarin-Kristallgemisch	0,5	roh	Arch. Pharm. 246, 402
Skimmia japonica	Blätter	Seselin	0,89	rein	B. 71, 353
Seseli indicum	Samen	Seselin Bergapten Iso-pimpinellin	1,99 0,42 0,07	rein „ „	B. 72, 821
Toddalia aculeata	Wurzelrinde	Toddalo-lacton	0,8	?	Arch. Pharm. 1933, 447
Athamanta Oreoselinum Peucedanum Oreoselinum	Wurzel	Athamantin Athamantin	3,8 1,7	? rein	B. 73, 1309
Luvunga scandens	Frucht	Luvangetin daneben noch Iso-pimpinellin	0,35 ?	rein	B. 73, 1361

Literaturverzeichnis.

1 Vogel, Gilberts Ann. d. Physik *64*, 161 (1820)
2 Bleibtreu, Ann. *59*, 177 (1846)
3 Perkin, Soc. *6*, 53 (1868); Ann. *148*, 206 (1868)
4 Fittig, Ann. *153*, 359 (1870)
5, 6, 7, 8, 9 vgl. Tabelle A, Literaturkolonne
10 Späth, B. *70*, I, 83 (1937) und Mh. d. Chemie *69*, 75 (1936)
11 Borsche, Ann. *377*, 77 (1910)
12 Riv. ital. Essenze Profumi Piante officinali *8*, 327 (1931)
13 Asai, Acta Phytochimica, Vol. V. Nr. 1, 18 (1930)
14 Ellinger, Arch. exp. Pathol. Pharmakol. (1908), Suppl. Schmiedeberg, Festschrift pag. 150
15 Späth, Mh. d. Chemie *69*, 108 (1936)
16 Kuske, H., Dermatologica, Separat. Vol. 82 (1940)
17 Fromherz, Biochem. Z. 113, 176 (1921)
18 von Werder, E. Mercks Jahresber. *50*, 88 (1936)
19 *Tunmann-Rosenthaler*, Pflanzenmikrochemie, 2. Auflage 322, 323
20 vgl. 19
21 vgl. 19
22 vgl. 19
23 Rochleder, Wiener Ak. Ber. *55*, 819
24 Seifert, Deutsche Apotheker-Ztg. 101/2, (1941) Dezember
25 Barger und Starling, Soc. (1915), 107
26 Perkin, Ann. *157*, 115 (1871)
27 Williams, Soc. (1929), 1383
28 Lüer, Diss. Phil. Berlin (1916)
29 Clayton, Soc. *93*, 524 (1908); C. Bl. (1908), I, 1931
30 Morgan und Micklethwait, Soc. *89*, 863 (1906); C. Bl. (1906), II, 337
31 Delalande, Ann. *45*, 337 (1843)
32 v. Miller und Kinkelin, B. *22*, 1706 (1889)
33 Simonis und Landsberger, Diss. Berlin, T. H. (1910)
34 Stoermer und Heymann, B. *45*, 3101 (1912)
35 Stoermer, vgl. 34
36 Naik und Patel, Soc. (1934), II, 1042
37 Dey und Row, Soc. *125*, 554 (1924)
38 Posner, B. *42*, 2523 (1909); B. *46*, 3818 (1913)
39 Borsche, B. *37*, I (1904)
40 Späth und Vierhapper, Mh. d. Chemie *72*, 179 (1939)
41 Späth, M. d. Chemie *69*, 80 (1936)
42 Brunswik, nach *Klein*, Handbuch der Pflanzenanalyse (1931)
43 Perkin, vgl. 3
44 Schoeller, B. *42*, 784 (1909)
45 Simonis, die Cumarine (1916) 75
46 Bargellini und Monti, Gazzetta Chimica italiana *45*, 90 (1915)
47 Reichstein, Helv. 1110 (1932)
48 Späth und Simon, Mh. d. Chemie *67*, 350 (1935)
49 Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse (1931) B. I.
50 Külz, Arch. Pharm. *221*, 161 (1883)
51 Feldmann, Ann. *135*, 236 (1865)
52 nach *Wehmer*, die Pflanzenstoffe, B. II (1931)
53 van Urk, Ph. Weekbl. *56*, 1390 (1919); *57*, 883 (1920)
54 Wittstein, Repert. Pharm. (1839), *68*, 15.

INHALTS-VERZEICHNIS

Allgemeiner Teil

Seite

1. Historisches 7
2. Chemie und Vorkommen 8
3. Die physiologische Wirkung der Cumarine 11
4. Der Nachweis der Cumarine 12

A. Der Nachweis auf physikalischem Wege 15

1. Sublimation 15
2. Fluoreszenz 15
3. Jodadsorption 15

B. Der chemische Nachweis 15

I. Reaktionen des unveränderten Moleküls.

1. Additionsreaktionen.
   Anlagerung von Brom 15
2. Bildung von Komplexsalzen.
   a) Perjodide 16
   b) Metallverbindungen 16
3. Substitutionsreaktionen.
   Nitroverbindungen 17

II. Reaktionen des aufgespaltenen Moleküls.

1. Quecksilberacetat- und Quecksilberacetamid-Verbindungen 18
2. Natriumsulfit und Ferrichlorid 20
3. Hydroxylaminspaltung 20
4. Bildung von Azoverbindungen 21

Experimenteller Teil

1. Die Testcumarine.

a) Ihre Auswahl und Beschaffung 24
b) Die Löslichkeit der Testcumarine 27

2. Die Prüfung der Cumarinreaktionen an den Testcumarinen.

A. Die Prüfung auf physikalischem Weg.

1. Sublimation 28
2. Fluoreszenz 28
3. Jodadsorption 30

B. Die chemische Prüfung.

I. Reaktionen des unveränderten Moleküls. Seite

1. Additionsreaktionen.
Anlagerung von Brom 33
2. Bildung von Komplexsalzen.
a) Perjodide 33
b) Metallverbindungen 34
3. Substitutionsreaktionen.
Nitroverbindungen 35

II. Reaktionen des aufgespaltenen Moleküls.

1. Quecksilberacetat- und Quecksilberacetamid-Verbindungen 35
2. Natriumsulfit und Ferrichlorid 39
3. Hydroxylaminspaltung 43
4. Bildung von Azoverbindungen 44

III. Versuch zum Nachweis der Furocumarine 47

3. Analysengang für die Abtrennung der Cumarine.
Die Prüfung der Cumarinreaktionen an Gerbstoffen . . 49
Die Abtrennung der Cumarine von Gerbstoffen . . 50
Die Isolierung der Cumarine zwecks Nachweis aus Pflanzenmaterial 51
Die Prüfung der Sublimate 54

4. Kontrolle der Eignung des Cumarinnachweises an cumarinhaltigen Drogen 56

5. Prüfung einiger Drogen auf Cumaringehalt 57
a) Untersuchung der offizinellen Umbelliferenfrüchte . . 57
b) Untersuchung der Früchte von Laserpitium latifolium . . 60
c) Untersuchung der Früchte und Wurzeln von Pastinaca sativa 61

6. Zusammenfassung 63

Anhang

Tabelle A

Zusammenstellung der in der Literatur angeführten natürlichen Cumarine 66

Tabelle B

Zusammenstellung verschiedener Drogen in bezug auf ihren Cumaringehalt 76

Literaturverzeichnis 78